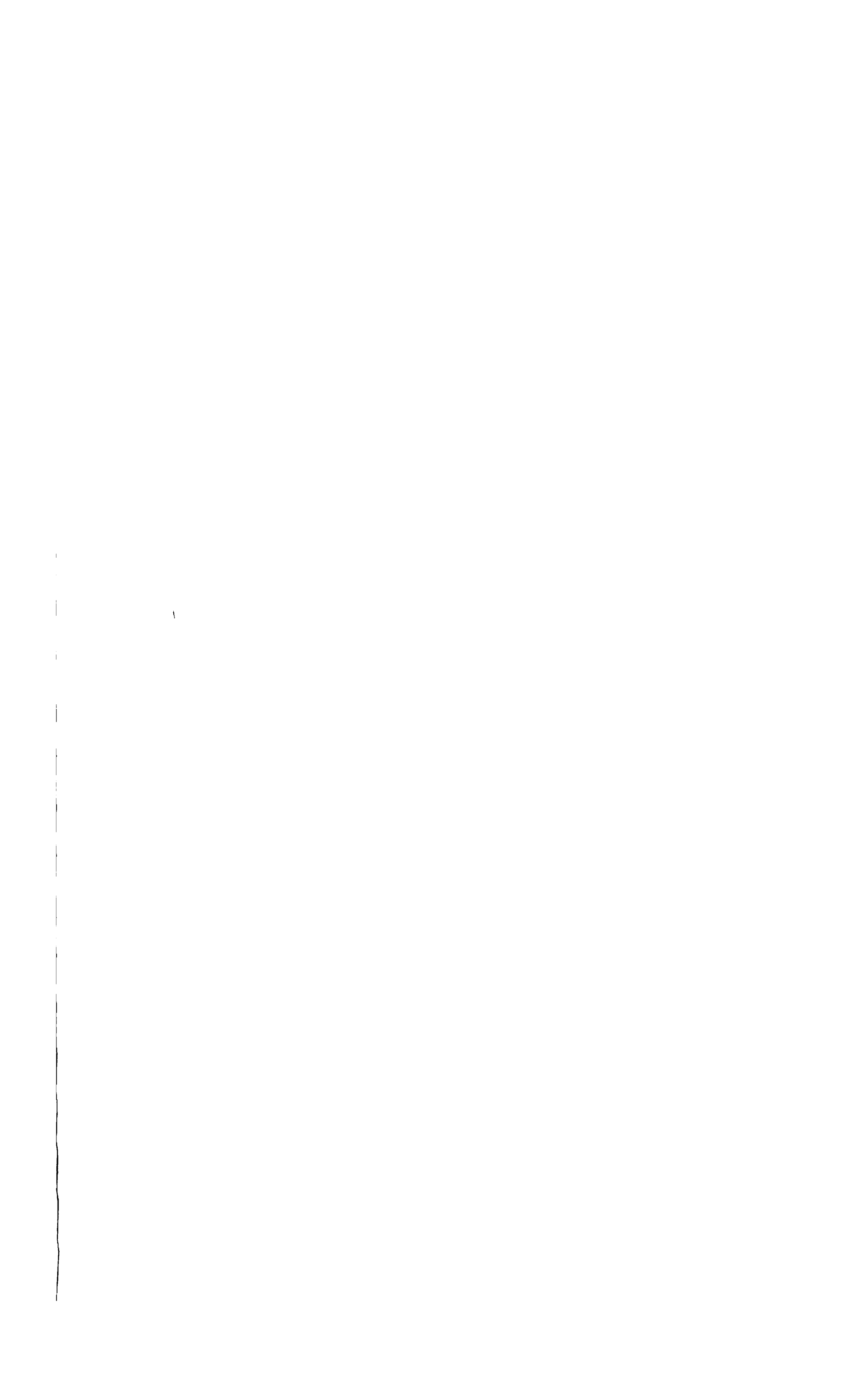

UC-NRLF
B 3 778 053











Biochemische Zeitschrift

Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie

Herausgegeben von

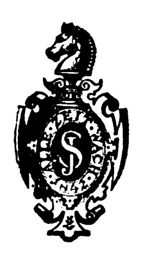
F. Hofmeister-Würzburg, **C. von Noorden**-Frankfurt a. M., **E. Salkowski**-Berlin, **A. von Wassermann**-Berlin

unter Mitwirkung von

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin

Hundertundfünfzehnter Band



Berlin

Verlag von Julius Springer

1921

Druck der Spamerschen Buchdruckerei in Leipzig.

Inhaltsverzeichnis.

Seite

Reinle, Hans. Über die Wirkung der Becquerel- und Röntgenstrahlen sowie des ultravioletten Lichtes auf die Peroxydase und Methylenblau-Formalin-Reduktase-Reaktion der Kuhmilch . . . 1

Feigl, Joh. Chemische Organuntersuchungen. I. Zusammensetzung der Leber bei akuter gelber Atrophie 22

Falta, W. und **M. Richter-Quittner.** Über die sogenannte oligodynamische Wirkung von Schwermetallen und Schwermetallsalzen 39

Wiener, Stella. Zur Methodik der Phosphorsäurebestimmung. Anwendung des Preglschen Verfahrens auf die Serumanalyse . . 42

Hartleben, Hans. Die Adsorption der Alkalichloride an Tierkohle 46

Hári, Paul. Über die Lichtadsorption des reduzierten Hämoglobins 52

Feigl, Joh. Über das Vorkommen und die Verteilung von Fetten und Lipoiden im Blute nach Blutentziehung. Chemische Beiträge zur Kenntnis des Lipämiegebietes. VII 63

György, Paul. Notiz zur Kenntnis der Senkungsgeschwindigkeit von roten Blutkörperchen 71

Fränkel, Sigmund. Über die Beziehung von Druck, Temperatur und Fermentwirkung. I. Mitteilung: Die Wirkung von Druck auf die Geschwindigkeit der Fermenthydrolysen durch Pepsin, Trypsin und Diastase. Von Gino Meldolesi (Rom) 85

Freudenberg, E. und **P. György.** Über Kalkbindung durch tierische Gewebe. II 96

Ege, Rich. Untersuchungen über das Volumen der Blutkörperchen in gegenseitig osmotischen Lösungen. Studien über das osmotische Verhältnis der Blutkörperchen. I 109

Keller, Rudolf. Dielektrizitätskonstanten biochemischer Stoffe . . 134

Salkowski, E. Zum Verhalten des Formaldehyds im Tierkörper . 159

Pribram, Hugo und **Fritz Eigenberger.** Über Harnkolloide und Stalagmone 168

Ege, Rich. Der osmotische Druck im Blutkörperchen und Plasma. Studien über das osmotische Verhältnis der Blutkörperchen. II. 175

Aron, Hans und **Richard Gralka.** Die akzessorischen Nährstoff-Faktoren. I. Zum Sondernährwert verschiedener Nahrungsfette 188

Herbst, Heinrich. Über die Adsorption durch Kohlenstoff 204

Takei, Takeo. Über die Verteilung des zum Blute hinzugefügten Wassers zwischen Blutkörperchen und Serum 220

Fühner, H. Die narkotische Wirkung des Benzins und seiner Bestandteile (Pentan, Hexan, Heptan, Octan) 235

Fühner, H. und **E. Mertens.** Der toxikologische Nachweis des Cytisins 262

Michaelis, L. Weitere Beiträge zur Theorie der Invertasewirkung 269

Neuberg, Carl und **Julius Hirsch.** Über ein Kohlenstoffketten knüpfendes Ferment (Carboligase) 282

Autorenverzeichnis **311**



Über die Wirkung der Becquerel- und Röntgenstrahlen sowie des ultravioletten Lichtes auf die Peroxydase und Methylenblau-Formalin-Reduktase-Reaktion der Kuhmilch.

Von

Hans Reinle.

(Aus dem Institute für Milchhygiene und Lebensmittelkunde der Tierärztlichen Hochschule in Wien.)

(Eingegangen am 23. Dezember 1920.)

Mit 1 Abbildung im Text.

Die bekannte Bedeutung der Milch als Nahrungsmittel läßt es begreiflich erscheinen, daß ihrer Untersuchung aus wissenschaftlichen und wirtschaftlichen Gründen besonderes Interesse entgegengebracht wurde.

Nach Auffindung der Fermentreaktionen waren es besonders die Arbeiten von Koning[52]), [63]), welche andere Forscher zu weiterer Arbeit auf diesem Gebiet anregten. Ebenso fördernd wirkte die von Schardinger[57]) aufgefundene Reaktion auf weitere Forschungen.

Die ziemlich umfangreiche Literatur darüber ist in den Arbeiten von Spolverini[50]), Trommsdorf[62]), Grimmer[61]), Samŝula[65]) u. a. niedergelegt, und ich kann mich hier mit einem Hinweis darauf begnügen.

So sehr auch die Methodik des Fermentnachweises ausgebaut ist, so muß doch zugegeben werden, daß die Ansichten über die Bedeutung der Fermentgegenwart in der Kuhmilch keine einheitlichen sind. Eine grundlegende tiefere Bedeutung ist bis jetzt den Fermenten nicht zuerkannt worden. Wohl nehmen verschiedene Forscher [Fleischmann[3]), Müller[68]) u. a.] an, daß die Fermente eine wichtige Rolle bei der Verdauung der Milchnahrung — hauptsächlich im Säuglingsalter — spielen, doch ist für diese Annahme der exakte wissenschaftliche Beweis noch nicht restlos erbracht. All die Fälle von Barlowscher Krankheit sowie Skorbut der Säuglinge werden von einer größeren Anzahl von Forschern als eine Folge der Ernährung mit fermentfreier Milch angesehen, während andere wieder diese Krankheitserscheinungen auf die durch die Erhitzung der Milch zerstörten organischen Kalkverbindungen sowie Vitamine, Cymasen [Behring[70])]

und andere ähnliche Stoffe zurückführen; kurz soweit unsere Kenntnis von den Fermenten der Milch bis jetzt reicht, können wir sie wohl als Produkte der Milchdrüse betrachten, welche sie benötigt, um die Milch zu bilden, evtl. wie wir z. B. der Amylase, die Milchzuckerbildung zuschreiben; doch ist ihnen eine tiefergehende Bedeutung schwerlich beizumessen [Grimmer[61])]. Der Grund dieser nicht einheitlichen Ansichten läßt sich wohl hauptsächlich auf die Schwierigkeiten der Untersuchungen zurückführen, die Fermente frei von Beimengungen und in größeren Mengen darzustellen. Trotzdem haben sich in den letzten Jahren die Arbeiten zur Erforschung der Fermente gehäuft und haben zu bemerkenswerten Resultaten geführt.

So wurde das Verhalten der Fermente in der Kuhmilch, nicht nur normaler Milch, sondern auch bei einigen Krankheiten der Milchtiere, sowie auch an pathologisch veränderter Milch untersucht.

Die vorliegende Arbeit stellt einen Beitrag dar zur Frage, inwieweit einige Fermentreaktionen der normalen Kuhmilch durch Becquerel- und Röntgenstrahlen bzw. ultraviolettes Licht eine Änderung erleiden oder nicht.

Geprüft wurde das Verhalten der Peroxydasen mittels der von Rothenfusser[66]) angegebenen Methode und das Verhalten der MF.-Reduktase nach Schardinger[57]).

Bezüglich des experimentellen Teiles dieser Arbeit sei angeführt, daß zum Nachweis der Fermentreduktase die Reduktaseröhrchen nach Lobeck benutzt wurden. Diese wurden mit 1 ccm der bekannten Methylenblau-Formalinlösung und 20 ccm Milch beschickt und der Ausfall der Reaktion in dem von Schern angegebenen Thermodiaskop beobachtet. Wird mit frischer ungekochter Kuhmilch in der beschriebenen Weise verfahren, so tritt durchschnittlich in 6—12 Minuten eine Entfärbung des Milchfarbstoffgemisches ein. Diese Entfärbung ist als Formalinreduktase des Schardingerfermentes anzusehen. Gleichzeitig gibt uns die Dauer der Entfärbungszeit einen Anhaltspunkt für die quantitative Schätzung der Fermentmenge, d. h. je schneller die Entfärbung eintritt, desto mehr Ferment muß vorhanden sein bzw. desto kräftiger ist dasselbe.

Die Peroxydase, auch Anärooxydase genannt, stellt nach Grimmer[61]) ein originäres von der Milchdrüse produziertes Ferment dar, dessen Optimaltemperatur bei 40—56° und dessen Inaktivierungswärme bei 76—80° liegt. Die Vernichtungstemperatur dieses Fermentes liegt sicher über 80°, da ich in einer Reihe von Versuchen nachweisen konnte, daß Kuhmilch durch 3 Minuten auf 80° erhitzt die Peroxydasereaktion nach Rothenfusser genau so gibt wie nicht erhitzte Milch. Der Nachweis dieses Fermentes nach Rothenfusser[66]) kann sowohl in der Kuhmilch wie auch in einigen Molkereiprodukten ausgeführt

werden, am besten in dem mit basischem Bleiessig bereiteten Serum dieser Flüssigkeiten. Ich selbst verwendete stets das aus 30 ccm Milch und 6 ccm basischem Bleiessig durch 10 Minuten langes Durchschütteln und Filtrieren durch ein trockenes Filter bereitete Serum, weil die Proben empfindlicher werden als in der Milch selbst. Die positive Reaktion ist dadurch gekennzeichnet, daß man zu 5—10 ccm des erhaltenen Bleiessigserums 1—2 Tropfen einer 1 proz. Wasserstoffsuperoxydlösung gibt und dann ungefähr 5 Tropfen des Rothenfusserschen Reagens. Nicht gekochte Milch bzw. unter 85° erhitzte, in der die Peroxydase noch vorhanden ist, zeigt sofort einen rotvioletten Farbenton, der kaum in einer Minute in ein tiefes Indigoblau übergeht. Gekochte Milch, in der also das Ferment fehlt, zeigt unverändertes Serum. Aus der Intensität und der Schnelligkeit, mit der die rotviolette Färbung auftritt, läßt sich ein ungefährer Schluß auf Menge und Stärke der vorhandenen Peroxydase ziehen.

Außer diesen Methoden zum Nachweis der MF.-Reduktase und der Peroxydase kam für die vorliegenden Versuche noch der Einfluß des Protoplasmagiftes Toluol auf diese Fermentreaktionen in Betracht. Da nämlich bei den Versuchen mit Becquerelstrahlen unbedingt eine Dauereinwirkung von 48 Stunden notwendig war, so mußte ein Mittel gefunden werden, das die Milch durch so lange Zeit bei Zimmertemperatur unverändert hält, ohne irgendeinen Einfluß auf die genannten Fermentreaktionen auszuüben. Ein solches Mittel ist nach der Arbeit von Samŝula Toluol in Mengen von 1 pro Mille, obwohl Seligmann[67]) angibt, daß Toluol die Säurebildung verhindere, dabei die Reduktionskraft herabsetze, während es die Oxydationskraft beschleunige. Ich habe die Angaben von Samŝula[66]) nachgeprüft und, wie aus Tabelle I ersichtlich ist, keinen Einfluß des Toluol in Mengen von 1 pro Mille auf die Peroxydase- und MF.-Reduktase-Reaktion gefunden.

Die in dieser Tabelle gefundenen Zeitunterschiede von 1 bis 2 Minuten können wohl als unvermeidliche Versuchsfehler, kaum aber als durchgreifende Unterschiede gewertet werden. Nachdem diese Vorversuche durchgeführt waren, konnte zu den Hauptversuchen geschritten werden. Die zur Untersuchung verwendete Milch stellt ein Gemenge aus Abend- und Morgenmilch von sechs Kühen dar, die unter ständiger tierärztlicher Kontrolle

der hiesigen Hochschule stehen. Die Abendmilch wurde die ganze Nacht auf eine Temperatur von 6—8° gekühlt. Vor den Versuchen selbst wurde die Milch noch eine halbe Stunde im Wasser von 6—8° gehalten, so daß sie mit der angegebenen Temperatur zu den Versuchen verwendet wurde.

I. Einfluß der Becquerelstrahlen auf die M. F.-Reduktase- und Peroxydase-Reaktion der Kuhmilch.

In den 25 Jahren seit der Entdeckung des Radiums und seiner Strahlen hat sich vielfach gezeigt, daß letztere auf lebende Organismen, Organe, Zellen und Zellprodukte, wie Toxine, Antitoxine, Fermente u. dgl. eine ganz bestimmte, gewöhnlich tötende und vernichtende Wirkung ausüben.

Als erster, der diesbezügliche Versuche anstellte, ist Schwarz[11]) zu nennen. Er setzte ein Hühnerei durch 144 Stunden den Strahlen von 20 mg Radium aus und konstatierte dann eine dunklere Verfärbung der Schale, entsprechend der Stelle der Radiumeinwirkung, eine Trübung des Eiweißes und eine stark ausgeprägte Veränderung des Eigelbes, wie Konsistenzerhöhung, gelbgrüne Verfärbung und deutlichen Trimethylamingeruch.

Im Anschluß an diesen Versuch von Schwarz erfolgte nun die Veröffentlichung einer ganzen Reihe ähnlicher Versuche. So konnte Schaper[12]) zeigen, daß auch das Eigelb von Froscheiern durch Radiumbestrahlung gleich starke Veränderung erleidet.

Später wurde dann von Strebel[15]), Aschkinass[17]), Caspari[16]), Pfeiffer und Friedberger[36]) der Einfluß der Bequerelstrahlen auf die Bakterien und Pilze untersucht und von ihnen die bactericide Kraft derselben festgestellt.

Auch Pflanzen, z. B. Senf- und Kressesamen, ferner niedrige Tiere wie Trypanosomen und Hydren, werden durch die genannten Strahlenarten in ihrem Wachstum stark gehindert [Goldberg[19])], London[51]), [54]), Salomonsen[20]) usw.]. Doch darf im allgemeinen behauptet werden, daß Pflanzen und niedere Organismen, ebenso wie die Bakterien, durchaus individuell verschieden auf die Radiumeinwirkung reagieren.

Weiter wurden auch Versuche mit den Prozessen der embryonalen Entwicklung, mit der Regeneration, sowie mit den Organen höherer Tiere gemacht und hier nicht minder die zerstörende Wirkung des Radiums beobachtet Scholz[24]), Halkin[21]), Halberstaedter[25]), Heinecke[23]), Danysz[18]) u. a. konstatierten dann zerstörende bzw. tödliche Wirkung auf höhere Tiere bei längerer Einwirkung.

Was nun die Erklärung dieser Radiumwirkung anbelangt, so ist eine einheitliche Theorie noch nicht aufgestellt worden.

Die ersten Erklärungsversuche basieren auf den Arbeiten Werners[13]), [5]), [6]). Derselbe hat beobachtet, daß an reinem Lecithin, nach Einwirkung der Radiumstrahlen, die gleichen Veränderungen auftreten, wie sie Schwarz am Hühnerei beobachtet hatte. In weiteren Untersuchungen

über Radiumeinwirkung auf organotherapeutische Präparate wie Spermin, Cerebrin, Ovarin, Mammin, Thyreoidin, Renin u. dgl. wiesen Coehl und Tarchanoff[14]) nach, daß auch bei diesen Stoffen die üblichen, oben genannten Veränderungen entstehen. Bei Berücksichtigung dieser angeführten Versuchsergebnisse lag es nahe, sich die Frage vorzulegen, ob nicht etwa die durch die Radiumwirkung entstandenen Spaltungsprodukte des Lecithins selbst für die Veränderungen im lebenden Gewebe verantwortlich gemacht werden müßten.

Es wurden auch tatsächlich von Exner, Zdarek u. a. Versuche über die Wirkung des Cholins, eines Spaltungsproduktes des Lecithins, auf den lebenden Organismus angestellt. Die beiden genannten Forscher beobachteten nach subcutaner Injektion von 2 ccm Cholin: Haarausfall, Ulcerationen, Hodenatrophie u. ä. m., kurz Symptome wie nach einer Radiumbestrahlung. Leider sind aber bis auf den heutigen Tag die Angaben über den Lecithingehalt der verschiedenen Organe weder vollständig noch genau, so daß eine Deutung der zitierten Versuchsresultate sehr gewagt wäre. Nichtsdestoweniger scheinen aber die an Lecithin reichsten Organe (Gehirn 10%, Spermatozoiden 1,5%) auch die größte Empfindlichkeit gegenüber der Wirkung der Radiumstrahlen zu besitzen (zitiert nach London u. a.). Außer dieser Erklärung liegen übrigens noch andere über die Radiumwirkung vor.

So vermutet Strebel, daß durch die Absorption der Radiumstrahlen grobe Insulte im trophischen Haushalte der Zellen hervorgerufen werden, die in der Folge zu Störungen des Chemismus und Mechanismus zur Disatrophie der Zellen führen und nur in diesem Stadium zu erkennen sind.

Einer anderen Ansicht ist Löwenthal[26]). Er glaubt, daß die biologischen Wirkungen der Becquerelstrahlen in einer Aktivierung der Körperfermente zu suchen sind.

Mit dieser seiner Ansicht stimmt jedoch das Gesamtergebnis der Tatsachen, die von J. Danysz[18]), London[22]), [9]), Golberg[19]), Henri Viktor[28]), [10]) und zuletzt von Physalix[27]), [55]) gesammelt worden sind, durchaus nicht restlos überein. Die Arbeiten der genannten Gelehrten gestatten uns den Schluß zu ziehen, daß die Radiumstrahlen gegenüber den verschiedenen Fermenten und den fermentähnlichen Substanzen wie Toxinen, Antitoxinen u. dgl. eine durchaus verschiedene Wirkung ausüben. Während verschiedene Fermente durch die Bestrahlung allerdings an Wirksamkeit zuzunehmen scheinen bzw. auch wirklich zunehmen, bleiben die anderen vollkommen unverändert, während die dritte Gruppe in ihrer katalytischen Wirkung starke Einbuße erleidet.

So gehört z. B. in die erste Kategorie das Trypsin [Danysz[18])]; in die zweite das Pepsin [London[22])], das Labferment [Henri Viktor[10])], das Rallein nud Diphtherietoxin [Goldberg[19])]; während der dritten Gruppe das Chymosin [Sigdall[30]); Schmidt-Nielsen[31])], das Invertin und das Emulsin [Henri Viktor[10])], das Hämolysin [Danysz[18])], sowie das Typhusagglutinin [Jagn[29])] angehören.

Wichtig bei diesen Versuchen ist, daß bereits nach sehr kurzer Einwirkung der Radiumstrahlen eine starke Beeinflussung der betreffenden

Fermente eintritt. So genügt z. B. eine 15stündige Bestrahlung mit 100 mg Radium, um dem Invertin ein Drittel seiner Wirksamkeit zu nehmen; die Kinase verliert nach 48 Stunden Bestrahlung vollständig ihre Kraft, während dem Emulsin zwei Drittel seiner Aktivität genommen werden.

Es sind endlich verschiedene Fermente bekannt, wie die Diastase des Mundspeichels und des Pankreas, die in der Weise beeinflußt werden, daß ihre Wirkung in den ersten Tagen durch die Becquerelstrahlen gehemmt, vom 4. Tage an aber erheblich beschleunigt wird [nach Löwenthal-Edelstein[32])].

An dieser Einteilung der Fermente in bezug auf ihre Empfindlichkeit gegenüber den Radiumstrahlen festhaltend, habe ich die Aldehydreduktase und die Peroxydase der Kuhmilch den Becquerelstrahlen durch 48 Stunden ausgesetzt, und zwar ging ich in folgender Weise vor:



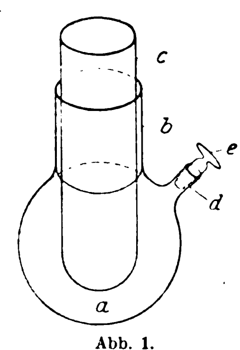
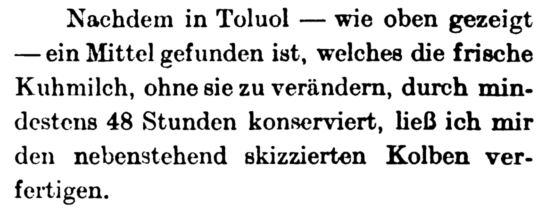


Abb. 1.



Nachdem in Toluol — wie oben gezeigt — ein Mittel gefunden ist, welches die frische Kuhmilch, ohne sie zu verändern, durch mindestens 48 Stunden konserviert, ließ ich mir den nebenstehend skizzierten Kolben verfertigen.

Der Fassungsraum des Kolbens *a* war vollständig kugelförmig und hatte einen Rauminhalt von 350 ccm. In den Hals *b* des Kolbens war eine 35 mm Durchmesser besitzende Eprouvette *c* eingeschliffen, deren Boden bis genau in den Mittelpunkt des kugelförmigen Kolbenraumes reichte. Seitlich des Halses war dann noch ein durch den eingeschliffenen Glasstöpsel *e* verschließbarer Tubus angebracht, der zur Probeentnahme von Milch diente.

Verwendet wurde der Apparat, indem er mit 300 ccm Milch gefüllt wurde. Die Milch selbst war vorher genau auf ihren Gehalt an Aldehydkatalase und Peroxydase untersucht worden. Es wurde hierauf 1 pro Mille Toluol zugesetzt, um Zersetzung durch Bakterien zu verhindern. Nach Beschickung des Kolbens mit Milch wurde die Eprouvette *c* sowie der Verschluß des seitlichen Tubus luftdicht aufgesetzt. In die Eprouvette selbst kam dann das von einem 3 mm dicken Bleimantel umschlossene Radiumpräparat, das durch 24 bzw. 48 Stunden auf die Milch einwirken gelassen wurde. Das Radiumpräparat wurde mir vom Vorstand des Radiuminstitutes in Wien, Herrn Prof. Dr. Heß,

in dankenswerter Weise zur Verfügung gestellt. Das Präparat (Standard Nr. 5) war ein Radiumchlorid ($RaCl_2$) von 807 mg (entsprechend 617 mg reines Ra) und war deshalb mit einem Bleimantel umschlossen, um die α- und β-Strahlen abzuhalten bzw. um nur die γ-Strahlen zur Wirkung kommen zu lassen. Absorbiert wurden in der 2,75 cm dicken Milchschichte 14,3% der α-Strahlen, was der Strahlenmenge eines 88,2 mg schweren reinen Radiumpräparates entspricht.

Zu erwähnen wäre noch, daß die Untersuchung der Milchproben sofort nach der Entnahme aus dem Kolben erfolgte und daß zwei Kontrollproben mit der „Radiummilch" aufgestellt wurden. Die eine (Nr. 1) befand sich 2 m von der Hauptprobe entfernt, die andere (Nr. 2) in einem anderen, weit entfernten Gebäude.

Nach 24 bzw. 48 Stunden wurden sämtliche Proben unter gleichen Bedingungen, deren Ergebnisse die Tabelle II aufweist, ausgeführt.

Wie aus dieser Tabelle ersichtlich ist, haben alle sechs Versuche gezeigt, daß die Peroxydase sowie die Aldehydreduktase durch Becquerelstrahlen nicht beeinflußt werden.

Es galt nun noch zu untersuchen, ob vielleicht die genannten Strahlen in über 100° erhitzter Milch, in der also die Fermente sicher abgetötet sind, eine Reaktivierung der Enzyme bedingt. Zu diesem Zwecke wurde die Milch auf 100° erhitzt, 5 Minuten lang sieden gelassen, dann auf 10° langsam abgekühlt. Die weitere Versuchsanordnung war die gleiche wie bei den vorhergehenden Proben. Man ersieht aus Tabelle III, daß eine Reaktivierung durch die Becquerelstrahlen nicht stattfindet.

II. Einwirkung der Röntgenstrahlen auf die M. F.-Reduktase und Peroxydase-Reaktion der Kuhmilch.

Der Einfluß der Röntgenstrahlen auf lebende Organismen ist bereits vielfach experimentell untersucht worden. Von vornherein konnte man ja erwarten, daß die durch die Radiumstrahlen erzielten Allgemeinwirkungen bei Tieren auch durch die X-Strahlen hervorzurufen sein würden, da man ja nach den neuesten Untersuchungen annehmen muß, daß die erwähnten Radiumstrahlen den Röntgen- oder auch X-Strahlen genannt, identisch sind.

Die Versuche von Scholz[33]), Perthes[74]), Albers-Schönberg[75]), Tarkhanoff[69]), Capranica[68]), O. Segny und Quénisset[69]) an Hühnern, Mäusen, Kaninchen, Fröschen und anderen Tieren zeigen zur Ge-

nüge, daß die Röntgenstrahlen ganz ähnliche, schwer schädigende Wirkungen teils auf die Versuchstiere selbst, teils auf deren Organismus besitzen. Wie bei den Becquerelstrahlen kann man auch bei der Bestrahlung mit Röntgenstrahlen nach längerer Dauer Entzündung der Haut mit Haarausfall, später Bläschenbildung, Sklerosierung, Nekrose und endlich Atrophie der Muskeln und Sehnen beobachten. Wird die Bestrahlung noch länger ausgedehnt, so entstehen, wie das Rodet und Bertin beobachtet haben, Krämpfe, Lähmungen, und schließlich erfolgte der Tod unter Betäubungen.

Ganz anders und zum Teil widersprechend sind jedoch die Resultate, die man bei der Bestrahlung der Bakterien, Protozoen und anderer niederer Tiere erzielt hat. So fanden W. Wolff[69]), Sormani[69]), Rivière[69]), Sambuc[69]), Berton[69]) u. a., daß die X-Strahlen das Leben und die Vegetation der Bakterien nicht im mindesten stören, während andere Forscher wieder, wie Rieder[69]), Holzknecht[69]), Genoud[69]), Gros[69]), Schaudinn[12]) nicht nur eine abtötende Beeinflussung der Bakterien, sondern auch eine Verzögerung und Hemmung in der Entwicklung bakterieller Infektionen durch die Bestrahlung konstatierten. Was die Wirkung dieser Strahlen auf die Toxine und Fermente anbelangt, so konnte ich in der von mir durchgesehenen Literatur keine Anhaltspunkte darüber finden.

Einiges noch über die Theorie der Wirkung dieser Strahlenarten. Kienböck[69]) nimmt z. B. eine rein chemische Wirkung an, zufolge welcher es zu Stoffwechselstörungen kommt. Eine ähnliche Ansicht vertritt L. Freund[69]), der behauptet, daß durch Zerstörung von Gewebselementen gewisse Stoffe produziert werden, deren Resorption die bekannten Allgemeinerscheinungen hervorrufen. Goldstein[69]) nimmt endlich an, daß Röntgenstrahlen beim Aufprallen auf wägbare Materie ultraviolettes Licht von sehr kurzer Wellenlänge erregen und daß die biologischen Effekte der Röntgenbestrahlung eigentlich diejenigen der ultravioletten Strahlen seien. Da aber die Röntgenstrahlen den ganzen Körper durchdringen, so müssen sie bei ihrem Durchgange überall, also auch in den inneren Organen (Herz, Leber usw.) ultraviolette Strahlen erregen und daselbst Veränderungen erzeugen, was aber nicht der Fall ist, da sie hauptsächlich nur in der Haut hre Wirkung ausüben.

Soviel über die Theorie bezüglich der Röntgenstrahlenwirkungen. Was nun meine Versuche mit diesen Strahlen betrifft, so verwendete ich zur Erzeugung derselben einen Rhumkorff-Apparat*), der primär 8 und sekundär 0,002 Ampère besaß. Die erzeugten Strahlen wurden durch eine ca. $5^1/_4$ cm dicke Milchmenge in einer Wanne von 19 cm Höhe und $10^1/_2$ cm Länge hindurchgesendet. Die Glasdicke betrug $3^1/_2$ mm, so daß also 1 l Milch zur Untersuchung kam. Zuerst wurde auch hier die rohe auf ungefähr 6—8° abgekühlte Kuhmilch untersucht. Eine

*) Der Rhumkorffsche Apparat wurde mir von Herrn Dr. R. Schmidt vom II. Phys. Institut freundlichst zur Verfügung gestellt.

Erhitzung durch die Röntgenstrahlen fand nicht statt. Wie aus Tabelle IV ersichtlich ist, war eine Abschwächung oder eine Verstärkung der Fermentwirkung nach 2stündiger Bestrahlung nicht zu beobachten. Da, wie oben bemerkt wurde, die Röntgenstrahlen den γ-Radiumstrahlen identisch sind, so verwundert uns das Resultat nicht. Es haben ja auch die letzteren keinen Einfluß auf das Schardingerferment und die Peroxydase gehabt.

Ferner untersuchte ich, ob in auf 100° erhitzter Milch eine Reaktivierung der beiden Fermente nach Röntgenbestrahlung eintrete. Das Resultat war hier ebenfalls ein negatives, wie das aus Tabelle V zu ersehen ist.

III. Einwirkung des ultravioletten Lichtes auf die M. F.-Reduktase und die Peroxydase-Reaktion der Kuhmilch.

Seit wir aus der Arbeit Finsens[38]) wissen, welch wichtiger therapeutischer Faktor in den Lichtstrahlen enthalten ist, haben zahlreiche Versuche über die Wirkung der zu verwendenden Lichtstrahlen auf den lebenden Organismus und seine Produkte unsere Kenntnis in dieser Hinsicht bereichert. So gelang es Hertel[39]), Thile und K. Wolff[37]) und vielen anderen nachzuweisen, daß Bakterien und ähnliche niedrige Organismen, wie Protozoen, Vermes und selbst Pflanzen durch ultraviolettes Licht sehr stark beeinflußt werden, so daß sie nach kürzerer oder längerer Dauer absterben. Auch Amphibien, Molusken, sowie die Zellen höherer Tiere und des Menschen sind gegenüber den chemisch wirksamen Strahlen sehr empfindlich, und Maklakoff[40]), Widmark[42]), Ognoff[43]), Möller[44]) und Hammer[41]) haben sowohl makroskopisch als auch mikroskopisch die durch ultraviolette Strahlen erzeugte Entzündung beobachtet.

Damit ist festgestellt, daß durch diese Strahlenarten von einer Wellenlänge von 280 μ auf das lebende Protoplasma ein heftiger Reiz ausgeübt wird, der bei längerer Dauer die Lebensfunktionen des Plasmas derart schädigt, daß es zur Sistierung derselben kommt. Es kann daher der durch ultraviolette Lichtstrahlen ausgeübte Reiz durchaus mit anderen Reizqualitäten, wie z. B. mit den chemischen oder thermischen, gleichgestellt werden.

Die Versuchsergebnisse zeitigten bald die Absicht, die chemisch wirksamen Strahlen zu therapeutischen, hygienischen und ähnlichen Zwecken heranzuziehen.

So hat man u. a. daran gedacht, die Milch durch ultraviolette Strahlen zu sterilisieren. Der Vorzug dieser Sterilisierung soll darin liegen, daß einerseits hauptsächlich die bedenklichen Bakterien, wie z. B. die peptonisierenden, abgetötet werden, während andererseits der Rohmilchcharakter der Milch durchaus nicht leidet.

Gegen diese Behauptung sprechen die Versuchsergebnisse von Much und Römer[59]), die nachgewiesen haben, daß die Milch durch direktes Sonnenlicht eine Zersetzung erleidet, die auf einer Fettveränderung beruht.

Es handelt sich hier um ein Talgigwerden der Milch im Sinne O. Jensens[1]). Oxydationsprozesse, für die auch die ultravioletten Strahlen sehr geeignet sind. Andere Forscher, wie Downes und Blunt[34]), zeigen dann, daß Fermente selbst durch Licht eine Schädigung erleiden, während O. Memmerling[71]), Weiss[72]) usw. wieder keine Beeinflussung der Fermente durch Lichtstrahlen konstatieren konnten.

Weiter behauptet Schmidt-Nilssen[73]), sowie auch Hertel[30]), daß sowohl Toxine wie auch Fermente durch ultraviolette Strahlen sehr stark in ihrer Wirkung abgeschwächt werden. Als Untersuchungsobjekte wählte Hertel Trypsin, Diastase, Lab, Peroxydase und Katalase der Milch. Er fand bei all diesen Fermenten, mit Ausnahme der Katalase, bei der eine Erhöhung der Fermentwirkung eintritt, eine starke Verminderung und Abschwächung derselben.

Die ausgedehntesten Versuche hat jedoch A. Jodlbauer[45]),[46]),[47]),[48]),[49]) im Verein mit v. Tappheimer und Janada angestellt. Das Ergebnis ihrer zahlreichen Untersuchungen war, daß die sichtbaren Strahlen die Fermente nur bei Gegenwart von Sauerstoff schädigen, während die unsichtbaren auch bei Sauerstoffabwesenheit diese Wirkung erzielen. Im ersteren Falle handelt es sich um eine einfache Oxydation, im letzteren jedoch um eine tiefgreifende Veränderung im Molekül selbst.

Auch Körner und Sames[69]) haben in ihrer Arbeit: „Notizen zur Frage der Milchsterilisation durch ultraviolettes Licht" die Behauptung, daß durch ultraviolette Strahlen der Kuhmilchcharakter der Milch unverändert bleibt, nicht bestätigt gefunden. Sie fanden allerdings eine beträchtliche Abnahme der Keimzahl in durch ultraviolettes Licht bestrahlter Milch, gleichzeitig aber auch eine starke Beeinträchtigung der Fermentwirkung (Oxydase- und M.F.-Reaktion), sowie eine Zersetzung des Milchfettes, die in der Bildung eines gelben Häutchens, Herabsetzung der Jodzahl und im Auftreten eines unangenehmen, kratzenden Geruches und Geschmackes zum Ausdruck kommt.

Was meine Versuche anbetrifft, so habe ich ebenfalls alle diese Symptome einer Milchzersetzung deutlich nachweisen können. Als Lichtquelle diente mir eine Quarzquecksilberlampe von 4 Ampère, 110 Volt, System „Künstliche Höhensonne", geliefert von der Quarzlampengesellschaft in Hanau. Die den ultravioletten Strahlen ausgesetzte Milch war in 36 cm Durchmesser besitzenden, kreisrunden Blechtassen, 15 cm von der Lichtquelle entfernt. Die Dicke der Milchschicht wurde 1 cm gewählt, da ultraviolette Strahlen gegenüber Flüssigkeiten, welche reichlich kolloidal gelöste Stoffe enthalten, sehr an Wirksamkeit verlieren (Courmont et Nogier[64]).

Die Milch, deren Oberfläche 650 ccm betrug, kam mit einer Temperatur von 10° C in die Blechtassen, in denen sie der Bestrahlung ausgesetzt wurde. Innerhalb 20 Minuten erreichte sie

durch die Strahlen eine Temperatur von 25°, die sie dann konstant beibehielt. Gleichzeitig mit diesen Proben wurden Kontrollproben aufgestellt, die zwar nicht belichtet, aber um die Bedingungen möglichst gleich zu gestalten, ebenfalls innerhalb 20 Minuten auf 25° erwärmt wurden. Zu erwähnen wäre noch, daß die dem ultravioletten Licht ausgesetzte Milch regelmäßig alle 5 Minuten gut durchgerührt wurde, um das sich immer wieder bildende gelbe, ziemlich starke Häutchen zu zerstören*).

Aus vorliegender Tabelle VI entnehmen wir also, daß in den ersten 20—30 Minuten eine Beschleunigung der Fermentwirkung eintritt, die dann einer immer stärker werdenden Verlangsamung Platz macht. Die anfängliche Beschleunigung ist jedoch nur eine scheinbare. Sie ist bedingt durch die Erwärmung der Milch auf 25°. Auch die erwärmte Kontrollmilch reduziert früher, um nach 20—30 Minuten eine konstante Reduktionszeit anzunehmen. Der Einfluß der ultravioletten Strahlen ist in den ersten 20—30 Minuten also noch nicht so stark, um eine wesentliche Zerstörung der Fermente zu bewirken. Erst nach 1, 2, 3 usw. Stunden wird die Wirkung der Strahlen so stark, daß dieselbe ziffermäßig zum Ausdruck kommt. Als Beweis, daß diese anfängliche Beschleunigung der Reduktionszeit tatsächlich nur auf die Temperaturerhöhung der Milch zurückzuführen ist, habe ich die entnommenen Proben wieder auf die Anfangstemperatur von 10° abgekühlt und nun sofort eine Verlangsamung der Reduktionszeit erhalten, wie aus Tabelle VII hervorgeht. Die vernichtende Beeinflussung der ultravioletten Strahlen auf die Aldehydreduktase ist auch auf die Peroxydase bzw. auf die Rothenfußer Reaktion zu konstantieren. Aber erst nach 1—2stündiger Bestrahlung ist bei dieser Reaktion diese Abschwächung zu bemerken, die darin zum Ausdruck kommt, daß 1. die Zeitdauer (vom Moment des Zugießens des Reagenses bis zum Auftreten der ultravioletten Farbe) verlängert ist, und 2. daß die charakteristische Farbe selbst etwas schwächer ist. Aus dem Umstande, daß diese Schädigung und Abschwächung der Peroxydase erst nach 1—2stündiger Bestrahlung durch ultraviolettes Licht deutlich wird, darf noch nicht auf eine größere Wider-

*) Die ersten Versuche führten zu einem falschen Resultat, da das Häutchen nicht beseitigt wurde und die ultravioletten Strahlen dasselbe nicht durchdringen konnten.

standsfähigkeit dieses Fermentes gegenüber dieser Strahlenart geschlossen werden. Man muß vielmehr diese erst später auftretende Abschwächung auf die geringere Empfindlichkeit der Reaktion selbst zurückführen. Tatsächlich haben auch Much und Römer[59]) keine größere Widerstandsfähigkeit der Peroxydase gegenüber den ultravioletten Strahlen beobachten können.

Tabelle I.

Schardinger-(M.F.-)Reaktion bei roher Kuhmilch mit 1 pro Mille Toluol-Zusatz.

		Zeit der Entfärbung nach		
		24h	48h	72h
1.	Frische Milch reduz. M.F. in 11 Min., Toluolmilch	11½	12	11½
2.	„ „ „ „ „ 7 „ „	7	7	9
3.	„ „ „ „ „ 8 „ „	6½	6½	6
4.	„ „ „ „ „ 5 „ „	5½	5	5¾
5.	„ „ „ „ „ 10 „ „	10½	11	11
6.	„ „ „ „ „ 9 „ „	8½	8	9
7.	„ „ „ „ „ 11½ „ „	12	11½	11½
8.	„ „ „ „ „ 10 „ „	10	9½	9½
9.	„ „ „ „ „ 6 „ „	7	7½	6½
10.	„ „ „ „ „ 6½ „ „	6½	7	7
11.	„ „ „ „ „ 10 „ „	10	9	9½

Die Reaktion auf Peroxydase nach Rothenfusser war bei der frischen Milch wie auch bei der 24- bzw. 48- und 72stündigen Toluolmilch gleichmäßig positiv. Vgl. auch mit den Entfärbungszeiten dieser Tabelle die Entfärbungszeiten der Kontrollproben in Tabelle II.

Tabelle II.

Schardinger-(M.F.-)Reaktion bei roher Kuhmilch nach verschieden langer Radiumbestrahlung (γ-Strahlen).

I. Versuchsreihe:

Frische reine Kuhmilch reduziert	M.F. in 12½ Min.
1. Nach 24h Radiumbestrahlung reduziert dieselbe Milch	„ „ 11½ „
2. Nach 48h Radiumbestrahlung reduziert dieselbe Milch	„ „ 12 „
Kontrolle 1:	
Dieselbe Milch nach 24h ohne Radiumbestrahlung reduziert	„ „ 11 „
Dieselbe Milch nach 48h ohne Radiumbestrahlung reduziert	„ „ 12½ „

Kontrolle 2:

Dieselbe Milch nach 24^h ohne Radiumbestrahlung reduziert . . . . M.F. in $11^1/_2$ Min.

Dieselbe Milch nach 48^h ohne Radiumbestrahlung reduziert . . . . „ „ 12 „

II. Versuchsreihe:

Frische reine Kuhmilch reduziert . . . . „ „ 10 „

3. Nach 24^h Radiumbestrahlung reduziert dieselbe Milch . . . . „ „ 10 „

4. Nach 48^h Radiumbestrahlung reduziert dieselbe Milch . . . . „ „ $9^1/_2$ „

Kontrolle 1:

Dieselbe Milch nach 24^h ohne Radiumbestrahlung reduziert . . . . „ „ $9^1/_2$ „

Dieselbe Milch nach 48^h ohne Radiumbestrahlung reduziert . . . . „ „ $9^1/_2$ „

Kontrolle 2:

Dieselbe Milch nach 24^h ohne Radiumbestrahlung reduziert . . . . „ „ 10 „

Dieselbe Milch nach 48^h ohne Radiumbestrahlung reduziert . . . . „ „ 10 „

III. Versuchsreihe:

5. Frische reine Kuhmilch reduziert . . . . „ „ 6 „

5. Nach 24^h Radiumbestrahlung reduziert dieselbe Milch . . . . „ „ $6^1/_2$ „

6. Nach 48^h Radiumbestrahlung reduziert dieselbe Milch . . . . „ „ 6 „

Kontrolle 1:

Dieselbe Milch nach 24^h ohne Radiumbestrahlung reduziert . . . . „ „ $5^1/_2$ „

Dieselbe Milch nach 48^h ohne Radiumbestrahlung reduziert . . . . „ „ 6 „

Kontrolle 2:

Dieselbe Milch nach 24^h ohne Radiumbestrahlung reduziert . . . . „ „ 6 „

Dieselbe Milch nach 48^h ohne Radiumbestrahlung reduziert . . . . „ „ 6 „

Die Reaktion nach Rothenfusser war in allen Proben gleichmäßig positiv.

Bei Versuch I verwendete ich ein Radiumpräparat: $RaCl_2 = 73{,}79$ mg schwer (entsprechend 56,53 mg reines Ra). Es wurden 14,3% der γ-Strahlen resorbiert, was der vollständigen Resorption aller γ-Strahlen eines 10,55 mg-Ra-Präparates entspräche.

„Kontrolle 1“ war 2 m vom Hauptversuch entfernt.

„Kontrolle 2“ war in einem entfernt gelegenen Laboratorium.

Tabelle III.

Schardinger-(M.F.-)Reaktion bei gekochter Kuhmilch nach verschieden langer Radiumbestrahlung (γ-Strahlen).

I. Versuchsreihe:

5 Min. lang gekochte Milch reduziert nach dem Auskühlen	M.F.	nicht
1. Dieselbe Milch nach 24^h Radiumeinwirkung reduziert	„	„
2. „ „ „ 48^h „ „	„	„
Kontrolle 1:		
Dieselbe Milch ohne Radiumeinwirkung reduziert nach 24^h	„	„
„ „ „ „ „ „ 48^h	„	„
Kontrolle 2:		
Dieselbe Milch ohne Radiumeinwirkung reduziert nach 24^h	„	„
„ „ „ „ „ „ 48^h	„	„

II. Versuchsreihe:

5 Min. lang gekochte Milch reduziert nach dem Auskühlen	„	„
3. Dieselbe Milch nach 24^h Radiumeinwirkung reduziert	„	„
4. „ „ „ 48^h „ „	„	„
Kontrolle 1:		
Dieselbe Milch ohne Radiumeinwirkung reduziert nach 24^h	„	„
„ „ „ „ „ „ 48^h	„	„
Kontrolle 2:		
Dieselbe Milch ohne Radiumeinwirkung reduziert nach 24^h	„	„
„ „ „ „ „ „ 48^h	„	„

Die Rothenfusserreaktion war ebenfalls in allen Proben **negativ**.

Tabelle IV.

Schardinger-(M.F.-)Reaktion bei roher Kuhmilch nach verschieden langer Bestrahlung mit Röntgenstrahlen.

I. Versuchsreihe:

Frische reine Kuhmilch reduziert	M.F.	in	7	Min.
1. Dieselbe Milch nach 5 Min. Bestrahlung reduziert	„	„	$6^1/_2$	„
2. „ „ „ 10 „ „ „	„	„	6	„
3. „ „ „ 20 „ „ „	„	„	6	„
4. „ „ „ 30 „ „ „	„	„	$6^1/_2$	„
5. „ „ „ 1 Std. „ „	„	„	6	„
6. „ „ „ 2 „ „ „	„	„	$7^1/_4$	„

II. Versuchsreihe:

Frische reine Kuhmilch reduziert	M.F.	in	7	Min.
1. Dieselbe Milch nach 5 Min. Bestrahlung reduziert	„	„	$7^1/_2$	„
2. „ „ „ 10 „ „ „	„	„	8	„
3. „ „ „ 20 „ „ „	„	„	$7^1/_2$	„
4. „ „ „ 30 „ „ „	„	„	$7^3/_4$	„
5. „ „ „ 1 Std. „ „	„	„	7	„
6. „ „ „ 2 „ „ „	„	„	7	„

III. Versuchsreihe:

Frische reine Kuhmilch reduziert							M.F.	in	12	Min.
1.	Dieselbe	Milch	nach	5	Min.	Bestrahlung reduziert	„	„	12	„
2.	„	„	„	10	„	„ „	„	„	13	„
3.	„	„	„	20	„	„ „	„	„	$11^{1}/_{2}$	„
4.	„	„	„	30	„	„ „	„	„	12	„
5.	„	„	„	1	Std.	„ „	„	„	$12^{1}/_{2}$	„
6.	„	„	„	2	„	„ „	„	„	$12^{1}/_{2}$	„

Die Rothenfusser-Reaktion war in allen Proben gleichmäßig positiv.

Tabelle V.

Schardinger-(M.F.-)Reaktion bei gekochter Kuhmilch nach verschieden langer Bestrahlung mit Röntgenstrahlen.

I. Versuchsreihe:

5 Min. lang gekochte Milch reduziert nach dem Auskühlen							M.F.	nicht
1.	Dieselbe	Milch	nach	5	Min.	Bestrahlung reduziert ...	„	„
2.	„	„	„	10	„	„ „ ...	„	„
3.	„	„	„	20	„	„ „ ...	„	„
4.	„	„	„	30	„	„ „ ...	„	„
5.	„	„	„	1	Std.	„ „ ...	„	„
6.	„	„	„	2	„	„ „ ...	„	„

Die Kontrollproben zeigen ebenfalls keine Reaktion.

II. Versuchsreihe:

5 Min. lang gekochte Milch reduziert nach dem Auskühlen							M.F.	nicht
1.	Dieselbe	Milch	nach	5	Min.	Bestrahlung reduziert ...	„	„
2.	„	„	„	10	„	„ „ ...	„	„
3.	„	„	„	20	„	„ „ ...	„	„
4.	„	„	„	30	„	„ „ ...	„	„
5.	„	„	„	1	Std.	„ „ ...	„	„
6.	„	„	„	2	„	„ „ ...	„	„

Die beiden Kontrollproben zeigen ebenfalls keine Reaktion in beiden Versuchsreihen, sowohl in der bestrahlten wie auch in der unbestrahlten Milch war die Rothenfusserreaktion negativ.

Tabelle VI.

Schardinger-(M.F.-)Reaktion bei roher Kuhmilch nach verschieden langer Bestrahlung mit ultraviolettem Licht.

I. Versuchsreihe:

Frische reine Kuhmilch reduziert							M.F.	in	12	Min.
1.	Dieselbe	Milch	nach	5	Min.	Bestrahlung reduziert	„	„	$8^{1}/_{2}$	„
2.	„	„	„	10	„	„ „	„	„	$7^{1}/_{2}$	„
3.	„	„	„	20	„	„ „	„	„	$6^{3}/_{4}$	„

4.	Dieselbe	Milch	nach	30 Min.	Bestrahlung	reduziert	M.F.	in	$7\frac{3}{4}$	Min.
5.	„	„	„	1 Std.	„	„	„	„	$9\frac{1}{2}$	„
6.	„	„	„	2 „	„	„	„	„	12	„
7.	„	„	„	3 „	„	„	„	„	$17\frac{1}{2}$	„
8.	„	„	„	4 „	„	„	„	„	$24\frac{3}{4}$	„

Kontrollprobe:

1.	Dieselbe	Milch	nach	5 Min.	ohne Bestrahlung	red.	M.F.	in	8	Min.
2.	„	„	„	10 „	„	„	„	„	7	„
3.	„	„	„	20 „	„	„	„	„	6	„
4.	„	„	„	30 „	„	„	„	„	3	„
5.	„	„	„	1 Std.	„	„	„	„	$2\frac{1}{2}$	„
6.	„	„	„	2 „	„	„	„	„	$2\frac{1}{2}$	„
7.	„	„	„	3 „	„	„	„	„	$2\frac{1}{2}$	„
8.	„	„	„	4 „	„	„	„	„	$2\frac{1}{2}$	„

II. Versuchsreihe:

	Frische reine Kuhmilch reduziert						M.F.	in	$17\frac{1}{2}$	Min.
1.	Dieselbe	Milch	nach	5 Min.	Bestrahlung	reduziert	„	„	$5\frac{3}{4}$	„
2.	„	„	„	10 „	„	„	„	„	4	„
3.	„	„	„	20 „	„	„	„	„	$4\frac{1}{2}$	„
4.	„	„	„	30 „	„	„	„	„	6	„
5.	„	„	„	1 Std.	„	„	„	„	9	„
6.	„	„	„	2 „	„	„	„	„	$13\frac{1}{2}$	„
7.	„	„	„	3 „	„	„	„	„	$18\frac{1}{2}$	„
8.	„	„	„	4 „	„	„	„	„	25	„

Kontrollprobe:

1.	Dieselbe	Milch	nach	5 Min.	ohne Bestrahlung	red.	M.F.	in	5	Min.
2.	„	„	„	10 „	„	„	„	„	$3\frac{1}{2}$	„
3.	„	„	„	20 „	„	„	„	„	$3\frac{1}{2}$	„
4.	„	„	„	30 „	„	„	„	„	3	„
5.	„	„	„	1 Std.	„	„	„	„	$3\frac{1}{2}$	„
6.	„	„	„	2 „	„	„	„	„	$3\frac{3}{4}$	„
7.	„	„	„	3 „	„	„	„	„	3	„
8.	„	„	„	4 „	„	„	„	„	$2\frac{3}{4}$	„

III. Versuchsreihe:

	Frische reine Kuhmilch reduziert						M.F.	in	$10\frac{1}{2}$	Min.
1.	Dieselbe	Milch	nach	5 Min.	Bestrahlung	reduziert	„	„	9	„
2.	„	„	„	10 „	„	„	„	„	$7\frac{1}{2}$	„
3.	„	„	„	20 „	„	„	„	„	$5\frac{1}{2}$	„
4.	„	„	„	30 „	„	„	„	„	5	„
5.	„	„	„	1 Std.	„	„	„	„	8	„
6.	„	„	„	2 „	„	„	„	„	12	„
7.	„	„	„	3 „	„	„	„	„	$17\frac{1}{2}$	„

Kontrollprobe:

1.	Dieselbe	Milch	nach	5 Min.	ohne	Bestrahlung	red.	M.F.	in	$9^1/_2$ Min.
2.	„	„	„	10 „	„	„	„	„	„	7 „
3.	„	„	„	20 „	„	„	„	„	„	$4^3/_4$ „
4.	„	„	„	30 „	„	„	„	„	„	4 „
5.	„	„	„	1 Std.	„	„	„	„	„	$4^1/_2$ „
6.	„	„	„	2 „	„	„	„	„	„	4 „
7.	„	„	„	3 „	„	„	„	„	„	$3^3/_4$ „

In der bestrahlten Milch war eine Verlangsamung sowie eine Abschwächung der Rothenfusser-Reaktion deutlich nachzuweisen. In den Kontrollproben blieb jedoch bis ans Ende eine gleichmäßig positive Reaktion.

Tabelle VII.

Schardinger-(M.F.-)Reaktion bei roher Kuhmilch nach Bestrahlung durch ultraviolettes Licht und nachheriger Abkühlung auf 10°.

I. Versuchsreihe:

Frische reine Kuhmilch reduziert	M.F.	in	$7^1/_2$ Min.
1. Dieselbe Milch reduziert nach 5 Min. Bestrahlung und Abkühlung auf 10° C	„	„	$7^1/_2$ „
2. Dieselbe Milch reduziert nach 10 Min. Bestrahlung und Abkühlung auf 10° C	„	„	8 „
3. Dieselbe Milch reduziert nach 20 Min. Bestrahlung und Abkühlung auf 10° C	„	„	10 „
4. Dieselbe Milch reduziert nach 30 Min. Bestrahlung und Abkühlung auf 10° C	„	„	12 „
5. Dieselbe Milch reduziert nach 1 Std. Bestrahlung und Abkühlung auf 10° C	„	„	15 „
6. Dieselbe Milch reduziert nach 2 Std. Bestrahlung und Abkühlung auf 10° C	„	„	$19^1/_2$ „
7. Dieselbe Milch reduziert nach 3 Std. Bestrahlung und Abkühlung auf 10 °C	„	„	24 „
8. Dieselbe Milch reduziert nach 4 Std. Bestrahlung und Abkühlung auf 10° C	„	„	31 „

II. Versuchsreihe:

Frische reine Kuhmilch reduziert	M.F.	in	5 Min.
1. Dieselbe Milch reduziert nach 5 Min. Bestrahlung und Abkühlung auf 10° C	„	„	6 „
2. Dieselbe Milch reduziert nach 10 Min. Bestrahlung und Abkühlung auf 10° C	„	„	$6^1/_2$ „
3. Dieselbe Milch reduziert nach 20 Min. Bestrahlung und Abkühlung auf 10° C	„	„	7 „
4. Dieselbe Milch reduziert nach 30 Min. Bestrahlung und Abkühlung auf 10° C	„	„	9 „
5. Dieselbe Milch reduziert nach 1 Std. Bestrahlung und Abkühlung auf 10° C	„	„	13 „

6. Dieselbe Milch reduziert nach 2 Std. Bestrahlung
und Abkühlung auf 10° C . . . . M.F. in $17^1/_2$ Min.
7. Dieselbe Milch reduziert nach 3 Std. Bestrahlung
und Abkühlung auf 10° C . . . . „ „ 23 „
8. Dieselbe Milch reduziert nach 4 Std. Bestrahlung
und Abkühlung auf 10° C . . . . „ „ 27 „

Die Rothenfußer-Reaktion war bei den beiden Proben Nr. 8 gegenüber der Reaktion bei der frischen Kuhmilch einerseits deutlich schwächer in der Intensität der Farbe, andererseits war auch die Zeit bis zum Auftreten des Farbenumschlages verlängert.

Tabelle VIII.

Schardinger-(M.F.-)Reaktion bei gekochter Kuhmilch nach verschieden langer Bestrahlung mit ultraviolettem Licht.

I. Versuchsreihe:

5 Min. lang auf 100° C erhitzte Kuhmilch gibt keine M.F.-Reaktion
1. Dieselbe Milch nach 5 Min. Bestrahlung „ „ „
2. „ „ „ 10 „ „ „ „ „
3. „ „ „ 20 „ „ „ „
4. „ „ „ 30 „ „ „ „ „
5. „ „ „ 1 Std. „ „ „ „
6. „ „ „ 2 „ „ „ „ „
7. „ „ „ 3 „ „ „ „ „
8. „ „ „ 4 „ „ „ „ „

Die Kontrollproben ergaben ebenfalls keine Reaktion.

II. Versuchsreihe:

5 Min. lang auf 100° C erhitzte Kuhmilch gibt keine M.F.-Reaktion
1. Dieselbe Milch nach 5 Min. Bestrahlung „ „ „
2. „ „ „ 10 „ „ „ „ „
3. „ „ „ 20 „ „ „ „ „
4. „ „ „ 30 „ „ „ „ „
5. „ „ „ 1 Std. „ „ „ „
6. „ „ „ 2 „ „ „ „ „
7. „ „ „ 3 „ „ „ „ „
8. „ „ „ 4 „ „ „ „ „

Die Kontrollproben ergaben ebenfalls keine Reaktion.

III. Versuchsreihe:

5 Min. lang auf 100° C erhitzte Kuhmilch gibt keine M.F.-Reaktion
1. Dieselbe Milch nach 5 Min. Bestrahlung „ „ „
2. „ „ „ 10 „ „ „ „ „
3. „ „ „ 20 „ „ „ „ „
4. „ „ „ 30 „ „ „ „ „
5. „ „ „ 1 Std. „ „ „ „

6. Dieselbe Milch nach 2 Std. Bestrahlung gibt **keine** M.F.-Reaktion
7. „ „ „ 3 „ „ „ „ „
8. „ „ „ 4 „ „ „ „ „

Die Kontrollproben ergaben ebenfalls keine Reaktion. Die Rothfußer-Reaktion war sowohl bei den Hauptproben wie auch bei den Kontrollproben negativ.

Literatur.

[1]) Jensen, Rev. générale du lait **6**. 1906. — [2]) König, J., Chemie der menschlichen Nahrungs- und Genußmittel, II. Bd. — [3]) Fleischmann, W., Lehrbuch der Milchwirtschaft. — [4]) Planche, Sur les substances qui développent la couleur bleue dans la resine de gaiac. Journ. de Pharm. **6**, 22. 1822. — [5]) Werner, Zur Kenntnis und Verwertung der Rolle des Lecithins bei der biologischen Wirkung der Radium- und Röntgenstrahlen. Dtsch. med. Wochenschr. 1905. — [6]) Werner, Vergleichende Studien zur Frage der biologischen und therapeutischen Wirkung der Radiumstrahlen. Beitr. z. klin. Chir. **52**. 1906. — [7]) Béchamp, Sur la zymase du lait de Femme. Compt. rend. **96**, 1508. 1883. — [8]) Bouchut, Hygiène de la première enfance. Paris 1885. (Zitiert nach Raudnitz in Asher-Spiro, Ergebn. d. Physiol. **11**. 1903.) — [9]) London, l. c. — [10]) Victor, Henri, Act. des radiations du radium sur les fermentes solubles. — [11]) Schwarz, Über die Wirkung der Radiumstrahlen. Arch. f. d. ges. Physiol. 1903. — [12]) Schaper, Experimentelle Untersuchung über die Wirkung des Radiums auf embryonale und regenerative Entwicklung. Dtsch. med. Wochenschr. 1904. — [13]) Werner, Experimentelle Untersuchung über die Wirkung der Radiumstrahlen auf tierische Gewebe und die Rolle des Lecithins in derselben. Zentralbl. f. Chir. 1904. — [14]) Poehl und Tarchanoff, Die Kombination der Radiotherapie mit der Organotherapie. Berl. klin. Wochenschr. 1905, S. 457. — [15]) Strebel, Über die Wirkung der Becquerelstrahlen auf Bakterien. Fortschr. a. d. Geb. d. Röntgenstr. **4**, 125. — [16]) Caspari, Die Bedeutung des Radiums für die Biologie. Ber. d. Ges. naturforsch. Freunde in Berlin 1906, S. 194. — [17]) Caspari und Aschkinass, Über den Einfluß dissoziierender Strahlen auf organisierte Substanzen, insbesondere über die bakterienschädigende Wirkung der Becquerelstrahlen. Arch. f. d. ges. Physiol. **86**, H. 7—10. 1901. — [18]) Danysz, De l'action pathogène des rayons et des émanations unis par le radium sur différents tissus et différents organismes. Compt. rend. de l'Acad. des Sc. **138**, 461, Nr. 7. 1904. — [19]) Goldberg, Zur Lehre von der physiologischen Wirkung der Becquerelstrahlen. Diss. St. Petersburg 1904. — [20]) Salomonsen et Dreger, Recherches sur les effets physiologiques du radium. Cpt. rend hebd. des séances de l'acad. des sciences 1904, S. 1543. — [21]) Halkin, Über den Einfluß der Becquerelstrahlen auf die Haut. Arch. f. Dermatol. u. Syphilis **65**, 201. — [22]) London, Das Radium in Biologie und Medizin. Leipzig 1911. — [23]) Heinecke, Über die Einwirkung der Röntgenstrahlen auf Tiere. Münch. med. Wochenschr. 1903, S. 2090. — [24]) Scholz, Über die physiologische Wir-

kung der Radiumstrahlen und ihre therapeutische Verwendung. Dtsch. med. Wochenschr. 1904. — [25]) Halberstaedter, Die Einwirkung der Röntgenstrahlen auf Ovarien. Berl. klin. Wochenschr. 1905, Nr. 3. — [26]) Löwenthal und Wohlgemuth, Einfluß der Radiumemanation auf die Diastase. Biochem. Zeitschr. 1909. — [27]) Physalix, Influance de l'émanation du Radium sur la toxicité du venin de vipère. Cpt. rend. hebdom. des séances de l'acad. des sciences 1904, S. 526. — [28]) Victor, Henri et André Mayer, Actes des radiation du radium sur les colloides. Münch. med. Wochenschr. 1903, S. 229. — [29]) Jagn, Über die Wirkung der Radiumstrahlen auf die Agglutinine. Russki Wratuh 1908, S. 653. — [30]) Sigdall Schmidt, Wirkung der Radiumstrahlen auf Chymosin. Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. 5, 398. 1904. — [31]) Schmidt-Nielsen, Wirkung der Radiumstrahlen auf Chymosin. Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. 5, 355. 1904. — [32]) Löwenthal-Edelstein, Beeinflussung der Autolyse durch Radiumemanation. Biochem. Zeitschr. 1908. — [33]) Scholz, Arch. f. Dermatol. u. Syphilis 59. — [34]) Downes und Blunt, On the influence of light upon protoplasm. Proc. of the Roy. Soc. 28, 205. — [35]) Fermi und Pernossi, Über die Enzyme. Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. 1886. — [36]) Pfeiffer und Friedberger, Über die bakterientötende Wirkung der Radiumstrahlen. Berl. klin. Wochenschr. Nr. 28. 1903. — [37]) Thiele, H. und K. Wolff, Über die Abtötung der Bakterien durch Licht. Arch. f. Hyg. 57, 60, 29. — [38]) Finsen, Über die Bedeutung der chemischen Strahlen des Lichtes für Medizin und Biologie. Leipzig 1899. — [38]) Finsen, Über die Anwendung von konzentrierten chemischen Lichtstrahlen in der Medizin. Leipzig 1899. — [39]) Hertel, Über die Beeinflussung der Organismen durch Licht, speziell durch die chemisch wirkenden Strahlen. Zeitschr. f. allg. Physiol. 4, 1. 1904. — [40]) Maklakoff, L'influence de la lumière sur les teguments du corps humain (L'Insolation electrique). Arch. d'ophthalmol. 9. 1889. — [41]) Hammer, Über den Einfluß des Lichtes auf die Haut. Stuttgart 1891. — [42]) Widmark, De l'influence de la lumière sur les parties interieures de l'oeil; de l'influence de la lumière sur la peau. Verhandl. d. biol. Ver. Stockholm 1888 (Ref. im Zentralbl. f. prakt. Augenheilk. 1889). — [43]) Ognoff, Arch. f. d. ges. Physiol. 63. — [44]) Möller, Einfluß des Lichtes auf die Haut. Bibliothek.-med. Abt. Dermatol. u. Syphilis. Stuttgart 1900. — [45]) Jodlbauer, A., Über die Lichteinwirkung auf Invertin bei Anwesenheit und Abwesenheit von Sauerstoff. — [46]) Jodlbauer, A. und v. Tappheimer, Über die Wirkung der photodynamischen Stoffe auf Protozoen und Enzyme. Dtsch. Arch. f. klin. Med. 80, 427. — [47]) Jodlbauer, A., Über die Wirkung des Lichtes auf Enzyme in Sauerstoff- und Wasserstoffatmosphäre. Ibid. 85, 386. — [48]) Jodlbauer, A., Über die Wirkung des ultravioletten Lichtes auf Enzyme. Ibid. 87, 373. — [49]) Jodlbauer, A. und A. Janada, Die Wirkungen des Lichtes auf die Peroxydase und ihre Sensibilisierung durch fluorescierende Stoffe. Biochem. Zeitschr. 8, 61. — [50]) Spolverini, Rev. d'hyg. et de méd. infant. 1, 3. 1902. — [51]) London und Goldberg, Etudes sur la valeur physiol. et pathol. de l'émanation du radium. Arch. d'électr. méd. 1904, S. 363. — [52]) Koning, Milchwirt-

schaftl. Zentralbl. 3, 41. 1907. — [53]) Babcock und Russel, 14. Rept. Wis. Expt. Stat. 1897, S. 161. — [54]) London und Goldberg, Reaction physiol. et pathol. des produits du radium. Ibid. 1904, S. 614. — [55]) Physalix, Influence de l'émanation du radium sur les venins. Ibid. 1905. — [56]) Seligmann, E., Über die Reduktase der Kuhmilch. Ibid. 52, 161; 58, 1. — [57]) Schardinger, Zeitschr. f. Unters. d. Nahr.- u. Genußm. 5. 1902. — [58]) Marfan und Weil-Hallé, Compt. rend. de la soc. de biol. 69, 396. 1900. — [59]) Much und Römer, Berl. klin. Wochenschr. 1906 und Sitzungsber. d. Ges. z. Förd. d. ges. Naturwissenschaften zu Marburg 1906, S. 7. — [60]) Römer, H. und Th. Sames, Notizen zur Frage der Milchsterilisierung durch ultraviolettes Licht. Hyg. Rundschau 20, 873. 1910. — [61]) Grimmer, Beiträge zur Kenntnis der Fermente der Milchdrüse und der Milch. Milchwirtschaftl. Zentralbl. 42, Jg. 1913, S. 617, 637, 657, 684. — [62]) Trommsdorff, Zentralbl. f. Bakteriol. 49, 291. 1909. Zur Frage der reduzierenden Eigenschaften der Milch nach der Schardingerschen Reaktion. — [63]) Koning, Biologische und biochemische Studien über die Milch. Leipzig 1908. H. 2. — [64]) Courmont et Nogier, Compt. rend. de l'Acad. des Sc. 149. Nr. 5. — [65]) Samŝula, J., Studie über die reduzierenden Eigenschaften der Milch. Inaug.-Diss. Wien 1915. — [66]) Rothenfusser, Zeitschr. f. Unters. d. Nahr.- u. Genußm. 16, 63. 1908. — [67]) Seligmann, E., Über den Einfluß einiger Aldehyde auf die Oxydationsfähigkeit der Milch. Zeitschr. f. Hyg. 50, 67. — [68]) Müller, E., Münch. med. Wochenschr. 1903, S. 625. — [69]) Freund, Leopold, Grundriß der gesamten Radiotherapie. Wien-Berlin 1903. — [70]) Sommerfeld, P., Handbuch der Milchkunde. — [71]) Emmerling, O., Die Einwirkung des Sonnenlichtes auf die Enzyme. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 34, 3811. — [72]) Weiss, Studier over proteolytiske Enzymer i spirende lipp. (Malt.) Meddelelser fra Carlsberg laboratoriet. 5, 239, H. 3 (zitiert nach Jodlbauer). — [73]) Schmidt-Nielsen, Die Wirkungen des konzentrierten elektrischen Bogenlichtes auf Chymosin, Chymosinogen und Antichymosin. Mitt. aus Finsens med. Lysinstitut H. 9, S. 199. — [74]) Perthes, Arch. f. klin. Chir. 71, 4. — [75]) Albers-Schönberg, Münch. med. Wochenschr. 1903, S. 43. — [76]) Rodet et Bertin, Gaz. des hop. 7. Mai 1898. — [77]) Schaudinn, Über den Einfluß der Röntgenstrahlen auf Protozoen. Arch. f. d. ges. Physiol. S. 29.

Chemische Organuntersuchungen. I.

Zusammensetzung der Leber bei akuter gelber Atrophie.

Von

Joh. Feigl.

(Aus dem chemischen Laboratorium des Allgemeinen Krankenhauses Hamburg-Barmbeck.)

(Eingegangen am 22. Dezember 1920.)

Vor einigen Jahren hat Verf. die nähere Erforschung der Stoffwechselvorgänge bei der akuten gelben Leberatrophie erneut wieder aufgenommen[1]). Die derzeitigen Untersuchungen hatten das Ziel, durchgehende Entwicklungsbilder blut- und harnchemischer Art zu entwerfen[2]). Ferner wurde die Absicht verfolgt, die neuen Methoden an den extremen Verhältnissen des N-Stoffwechsels usw. zu studieren[3]). Dabei ergab sich auch die Aufgabe, zwischen den begrifflich-formalen Werten und der präparativ-analytischen Aufarbeitung zu vermitteln[4]). Im Gebiete der Aminosäuren lag die Arbeit von Neuberg und Richter vor[5]). Zu den derzeit nicht geklärten Aufgaben gehört die Feststellung der Endfraktionen der N-Verteilung im Harn[6]). Was dieselbe im Nichtprotein-N des

---

[1]) Joh. Feigl und H. Luce, diese Zeitschr. 79, 161. 1917; Diese Zeitschr. ebenda 207. — Joh. Feigl, diese Zeitschr. 86, 1. 1918. — Joh. Feigl und H. Luce, diese Zeitschr. 86, 48. 1918.

[2]) Fall 1 von F. und L. in langjähriger durchgehender Untersuchung (s. dort), S. 177, ca. 7 Wochen.

[3]) loc. cit. [1]) s. dazu ferner S. 178, siehe Tab. I. Vergleichende Pathologie des α-Amino-N S. 191.

[4]) loc. cit. [1]) ebenda S. 182ff.

[5]) Neuberg u. Richter, cit. in [1]).

[6]) In den späteren Fällen, die (1918, 1919) gehäuft auftraten, durchgeführt. Der sog. Rest-N des Harns ist recht hoch. Neben $\overset{+}{\text{Ur}}$N, α-Amino-N, NH_3 — N, $\overset{-}{\text{Ur}}$N wurden oft bis zu 30% Rest-N gefunden. In ihm sind Nicht-Ur-Purine, Peptide, Oxyprotein-N u. a. angereichert. Analysen folgen später. Sie hängen weitgehend von der Kritik der Einzelmethoden für obige Größen ab. — Joh. Feigl, Vortrag, Ärztl. Verein Hamburg, Mai 1916, s. a. u.

Blutes angeht, so ist seither mehrfach darüber verhandelt worden[1]). F. Schweriner hat jüngst den Polypeptid N der Restfraktion untersucht[2]). Im übrigen ist die summarische Endfraktion des analytischen Systems des R-N zum Gegenstand besonderer Arbeiten zu machen[3]). Von beschreibend-pathologischen Zwecken abgesehen, hat sich der eminent abgeartete Stoffwechsel als wichtiges methodisches Übungsfeld erwiesen[4]). Er ist dabei der vergleichenden Kritik zugute gekommen.

Indem Verf. auf seine derzeitigen Mitteilungen über die R-N-Lipämie-Zucker-Gebiete und auf die Harnanalyse hinweist, teilt er heute Befunde mit, die sich auf den Zustand der erkrankten Leber beziehen. Angaben über diese hat Verf. schon derzeit verwertet und in Aussicht gestellt[5]). Indes legte die Beobachtung uneinheitlicher Bilder nahe, größeres Material zu sammeln. Den Anstoß, die seinerzeit reservierte Darlegung der Organzusammensetzung jetzt zu vollziehen, gibt eine soeben erschienene Mitteilung von Stadie und van Slyke.

Die vorhandene Literatur bringt außerordentlich wenig.

Die dem Verf. in der Kriegszeit nicht zugängliche Arbeit von Wells findet Unterschiede im Fettgehalt bei Leberatrophie (2,0—8,7%) und bei P-Intoxikation und fettiger Degeneratien (25 bis 30%). Wells untersuchte auch einen wichtigen Teil des R-N der Leber, nämlich den α-Amino-N. Er bediente sich der präparativ-analytischen Methoden, ohne auf Abgleichung gegen die analytische Fraktionierung und Bestimmung Wert zu legen. Seine schönen Befunde lassen also — ebensowenig die blutchemischen Neubergs — eine Aufrechnung des faktischen pathologischen Gesamtein-

---

[1]) Joh. Feigl, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 1918. 83, 335 und vorhergehend. — Ders., diese Zeitschr. 94, 84. 1919. — Ders., Zeitschr. f. d. ges. exp. Med. 8, 1919 s. ebenda 1921.

[2]) F. Schweriner, Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. 21, Heft 1. 1920. Die Darstellung Schweriners betr. die Arbeiten Feigls und seiner Mitarbeiter ist unzutreffend. Herr S. hat uns brieflich ergänzende Berichtigung zugesagt. Betreffs der Hydrolysenmethode des Peptid-N ist zu sagen, daß sie nur in günstigen Mengenverhältnissen zu greifbaren Zahlen führen kann. (Ältere Versuche des Verf. F.) Die Angaben Schweriners über seine Handhabung zur Verfeinerung der Formolmethode sind früher von Clementi in dessen systematischen Studien über Mikroformol-N schon gemacht worden. Siehe bei Joh. Feigl, Zeitschr. f. d. ges. exp. Med. 8, 367. 1919.

[3]) Joh. Feigl, Zeitschr. f. d. ges. exp. Med. 1921.

[4]) loc. cit. [1]) (1917), S. 1917, siehe folgende Mitteilung.

[5]) Vortrag 1916, Arbeit s. loc. cit. (mit Luce, IV. Mitt.) 1918, S. 97.

druckes zu. Erst die neuen analytischen Arbeitsgänge leisten dies. Daher hat Verf. (mit Luce, 1917) auf die Verknüpfung großen Wert gelegt. Die aktuellen außernormalen Befunde müssen erst einmal erhalten werden, um innerhalb diagnostischer und prognostischer Überlegungen zur Geltung zu kommen. So urteilen auch Stadie und van Slyke, daß der aktuelle Betrag von α-Amino-N bei Wells etwa doppelt so groß gewesen sein mag, wie die Aufarbeitung angibt. Auf die abgleichende Rechnung zwischen Isolierung und Analysenschema im Falle von Feigl und Luce ist hingewiesen. Dort bleiben rund 45% ungedeckt. Später hat Feigl (1919) Reihenbeobachtungen zwischen analytisch bestimmtem α-Amino-N und Fraktionierungswerten mitgeteilt. Es gibt auch in günstigen Verhältnissen keine Parallele, da nicht nur der individuelle Aufbau der α-Amino-N-Fraktion, sondern auch (u. U. erst recht) die übrigen Blutkrystalloide maßgebend werden oder bleiben. Um die Pathochemie einzelner Aminosäuren zu ermitteln, ist der präparative Weg zu beschreiten.

Andererseits wird auch hier die Möglichkeit einer Gegenkontrolle anzuerkennen sein. Es kommen Detailanalysen einzelner Säuren in Frage: Die Diazocolorimetrie (v. Fürth, Koeßler), die Tryptophancolorimetrie (v. Fürth), die Tyrosincolorimetrie (Folin u. a., jüngst — 1920 — näher konsolidiert) u. a. sind hier von Wert[1]). Fernere Literatur zur Spezialfrage siehe in früheren Mitteilungen des Verfs.

Nun sind auch die Organanalysen von Wells[2]) nicht sehr zahlreich. Die übrigen, speziell auch unsere Angaben, sind dringend erwünscht, um zwischen Zufälligkeiten in den Bildern der Einzelfälle und dem Prinzip evtl. vermitteln zu können. In mancher Beziehung hat die Blutanalyse — wie unten zu zeigen ist — solcherart Urteile ermöglicht[3]). Vom Organzustande aus kann (u. U. muß) die Stellungnahme eine andere sein. Sie wird sich als fruchtbar erweisen können, da blutchemische Vorarbeiten im gegebenen Kreise pathologischer Verhältnisse nunmehr in zureichender Menge vorliegen. Es ist speziell auf den Lipämiekomplex, das R-N-Gebiet und die Reduktionsgrößen Bezug zu nehmen[4]).

G. Hoppe-Seyler[5]) publizierte 1916 außerordentlich wichtige Ergebnisse über den chemischen Aufbau der kranken Leber. Sehr bedeutsam ist die analytische Ermittlung und die Auswertung der Befunde für Binde-

---

[1]) Siehe später. Siehe bes. Johnsen sowie Gortner (1920).

[2]) G. Wells, Arch. of internat. med. **9**, 628. 1907.

[3]) loc. cit. [1]) spez. Feigl und Luce (IV. Mitt.) 1918, S. Schlußsätze.

[4]) Joh. Feigl, spez. Lipämie III, diese Zeitschr. **90**, 1. 1918; sowie loc. cit. (R-N-Arbeiten) 1918, 1919, diese Zeitschr. **105**, 112. 1920.

[5]) G. Hoppe-Seyler, Zeitschr. f. physiol. Chemie **98**, 285. 1916. Methoden S. 287 ff.

gewebssubstanz. Indes ist der Kreis der Methoden auf den R-N des Organs nicht ausgedehnt. Der Autor legt zwei Fälle von Leberatrophie mit pathologisch-klinischen Angaben[1]) vor. Beide scheinen uns nicht zu den extremen zu gehören. Sie zeigen jedenfalls keinen gesenkten Wassergehalt (76,9%; 80,3%, letzterer erhöht). Der Fettgehalt des einen ist normal (oder leicht gesenkt 1,9%), der des anderen wenig gesteigert (6,9%)[2]).

Stadie und van Slyke[3]) haben einen Fall durchuntersucht in gleicher Weise, wie es Verf. und Luce vorschwebte. In der Reichweite decken sich ziemlich genau die Fragestellungen, die wir der Organuntersuchung zuwandten. Sonst sind überschießende Erträge auf unserer Seite vorhanden. Der Wassergehalt des Organes ist mit 71,7% (gegen Norm, rund 76%, Wells) nicht erhöht. Das Gesamtfett, mit 13,5% (Norm, rund 8%, Wells), ist entschieden erhöht. Stadie und van Slyke fanden (spez. Wassergehalt angehend) ihren Fall abweichend gegenüber den beschriebenen. Jedenfalls ist der eine genau durchuntersuchte Fall der Autoren eine Bereicherung der Literatur[4]). Er kann aber, neben die anderen gesetzt, und was das Organ angeht, nur dazu führen, daß man die bekannten Tatsachen als uneinheitlich anzusehen versucht ist. Aus dem klinisch-pathologischen Bilde allein läßt sich die jeweilige Abweichung nicht deuten.

Dieselben merkwürdigen Abartungen haben wir bei unseren ersten 5 Fällen (1915—1917) gesehen, deshalb nicht sofort eine abschließende Publikation vorgenommen. Mit dem Zuwachsen geeigneter Fälle können wir (Ende 1920) 24 durchuntersuchte Organe zusammenstellen, deren größter Teil zu durchaus kompletten Blut- und Harnanalysen gehört[5]).

Bang[6]) verfolgte (1918) die Vorstellung, daß bei Leberatrophie eine Senkung des Blutcholesterins (vielleicht nur in erster Phase) eintreten müsse. Feigl und Luce[7]) fanden Anstiege im Spätverlaufe. Dieselben fanden

---

[1]) loc. cit. [1]) Tab. S. 290, 291; das. lfde. Nr. 8 (Hec) und Nr. 9 (Pö) Krankengeschichte S. 293, 294. Ausdeutung S. 295.

[2]) Die außerordentlich wichtige und gehaltreiche Arbeit von G. Hoppe-Seyler ist von Stadie und van Slyke nicht benutzt worden (s. Fußnote [1]).

[3]) W. C. Stadie und D. D. van Slyke, Arch. of. internat. Med. 1920, S. 693ff. Literaturübersicht S. 693. Beschreibung des Falles S. 695. Methodenübersicht ab S. 696ff, Theorie S. 702ff.

[4]) Den Autoren (St. und van Sl.) sind, zweifellos durch den mangelnden Literaturausgleich in der Kriegszeit, die Arbeiten von Feigl und Luce (s. oben) völlig entgangen. Insofern ist die sonst sehr gründliche literarische Darstellung durchaus unzutreffend. Wir möchten die Herren Stadie und van Slyke auf unsere Mitteilungen hinweisen und eben diese wie die grundlegende Arbeit Hoppe-Seylers zu einer berichtigenden Einrangierung empfehlen.

[5]) In anderen Mitteilungen von Feigl mehrfach erwähnt. Fälle derart wurden methodologisch herangezogen.

[6]) J. Bang, Lipämiestudien, diese Zeitschr. 1918, s. eine fernere Mitteilung von Feigl.

[7]) loc. cit. spez. III. Mitteilung.

durchgehend (maskierte) Lipämiewerte höherer Grade, einmal letal Fettsäureschuppen im abgekühlten Plasma. Sie stellten Lecithinverarmung im Plasma fest. Auch wurden Phosphorylkomplexe im Blut und Harn angereichert gefunden [1]). Diese blutchemischen Feststellungen zum Lipoid-Fettstoffwechsel verlangen Kombination mit den Befunden am Organ. Systematisch bedeutsam sind die Arbeiten von Joh. Fex (1920) über die Methodik (mikroskopisch gegen chemisch; letztere für sich) der Cholesterinbestimmung [2]).

Einfacher, d. h. übersichtlicher. steht das R-N-Gebiet nach den jetzt ausgedehntesten Analysen von Feigl und Luce da [3]). Doch mußte auch hier der Bestand des Organes mit im Blute kreisenden wie mit den im Harne erscheinenden Produkten verglichen werden [4]).

Feigl und Luce fanden fast stets (letal) Hypoglykämie höherer Grade [5]).

Feigl fand in einigen Fällen Hämatinämie und hämolytisches Bilirubin; beides ist für die Frage toxischer Entwicklungen bedeutsam [6]).

Eine Übersicht über das bis zur letzten Arbeit vorliegende Material lehrt die Begrenztheit unserer Kenntnisse. Die Einzeldiskussion erübrigt sich daher. Unser eigenes Material verfolgt den Zweck ergänzender Feststellungen zu den eigenen Blutanalysen usw., ferner die Betrachtung an reichlicheren Fällen.

Auf die von uns schließlich gewählten Methoden und die vergleichenden Studien an den in Betracht kommenden Möglichkeiten sei an dieser Stelle nicht näher eingegangen.

R-N wurde nach dem Stande der Literatur durch Heißkoagulation und recht eifrige Nachklärung isoliert. Die R-N-Lösungen dienten zur Ausführung aller Detailanalysen. Harnstoff und Ammoniak wurden in der kombinierten Ureasetechnik aufgesucht, Kreatinin und Kreatin wurden nach Folins bzw. nach Denis (1916) Richtlinien bestimmt. Der koagulierbare N wurde überwiegend errechnet, u. U. zur Kontrolle noch direkt ermittelt. Doch tritt dies Verfahren zurück. Gesamtfett wurde früher nach Kumagawa-Shimiedzu, später nach Gephart-Csonka, auch nach Grimbert bestimmt. Cholesterin wurde indirekt abgeleitet oder direkt nach Thaysen-Fex ermittelt. Weitere, spez. die anorganischen Fragen und die Verknüpfung mit dem organischen P werden zurückgestellt (Anlehnung an Chapin und Powick).

---

[1]) loc. cit. spez. auch IV. Mitt., s. auch Joh. Feigl, diese Zeitschr. 89, 126. 1918 (Organ-P im Harn).

[2]) Joh. Fex, diese Zeitschr. 104, 82. 1920 spez. S. 160ff. Ablehnung der Landau-McNeeschen Angaben; näheres s. Text; s. dazu Joh. Feigl, Zeitschr. f. d. ges. exp. Med. 11, 178. 1920.

[3]) loc. cit., spez. I. u. III. Mitt.

[4]) S. II. Mitteilung.

[5]) loc. cit. I. u. III. Mitteilung.

[6]) Joh. Feigl, loc. cit. (s. a. 1918).

Größte Sorgfalt wurde — in Anlehnung an die Methoden und Urteile von Hoppe-Seyler — auf die Handhabung der Probenahme gelegt. Es wurde mit allen Mitteln auf Durchschnitte hingearbeitet. Ferner wurden Detailanalysen den Durchschnittsermittlungen zur Seite gestellt (s. unten).

Unsere Materialien sind in folgenden Tabellen dargestellt.

Tabelle I.

Chemische Zusammensetzung der Leber bei akuter gelber Atrophie. I. Gewicht; Wasser, Trockensubst. usw. in Prozenten vom Gewichte des feuchten Organs.

Nr.	Gewichtsangaben		Weitere Angaben	Chemische Zusammensetzung, auf das Gesamtgewicht der frischen Leber bezogen				
	Absol. (g)	Prozentisch n. überschläglichem „Normalgewicht“		Wassergehalt %	Trockenrückstand %	Gesamtfett %	Gesamtasche %	Trockenrückstand fettfrei; aschefrei %
1	1400	73,8	cirrhotisch	81,5	18,5	3,2	1,3	14,0
2	1200	69,0	unklare Anamnese Wa+	80,2	19,8	4,2	1,1	14,5
3	1105	70,0	F.-L. 2 (s. dort)	78,5	21,5	7,5	1,0	13,0
4	1100	62,0	L. Hg. Salv.	75,0	25,0	9,6	1,2	14,2
5	1008	66,9	„ „	83,1	16,9	3,0	0,9	13,0
6	1000	65,0	unklare Anamnese l	74,2	25,8	9,2	1,4	15,2
7	925	47,0	typischer Verlauf Wa+	76,2	23,8	5,3	1,0	17,5
8	920	52,0	Salv. L.	80,2	19,8	6,2	0,7	12,9
9	910	53,0	Salv. L. l	75,5	24,5	9,8	1,0	13,7
10	900	49,0	F.-L. 3 (s. dort)	72,5	27,5	11,5	1,2	14,8
11	850	44,0	typischer Verlauf	76,0	24,0	8,7	0,9	14,4
12	820	48,0	„ „ Wa+	70,8	29,2	13,6	1,0	14,6
13	800	40,0	„ „	72,0	28,0	13,6	0,8	14,8
14	780	41,2	F.-L. 4 (s. dort)	69,2	30,8	16,0	0,5	13,4
15	750	38,0	typischer Verlauf W θ	66,8	33,2	17,2	0,8	15,2
16	730	38,0	Feigl-Luce (1917) II	68,0	32,0	17,0	1,0	14,0
17	730	36,0	Salv. L.	65,2	34,8	20,1	1,0	13,7
18	702	37,0	F.-L. 5	70,8	29,2	14,4	0,6	14,2
19	680	35,0	F. 6 typisch Wa θ	66,2	32,8	19,1	0,7	13,0
20	635	32,0	cirrhotisch l.	60,5	39,5	26,0	0,66	12,8
21	630	40,0	Salv. L.	65,2	34,8	18,8	0,8	15,2
22	620	41,0	unklar, toxisch?	66,3	32,7	17,7	0,6	14,4
23	582	32,0	typischer Verlauf	58,3	41,7	25,4	0,8	15,5
24	580	30,0	„ „	63,6	36,4	20,2	1,2	15,0

Bemerkung 1: Unklar usw. bedeutet, daß nähere anamnestische Daten von Gewicht nicht zugänglich waren. Typischer Verlauf = übliches klinisches Bild. l = ziemlich langfristiger Verlauf, vgl. Lit. Feigl-Luce 1917. F.-L. = Feigl-Luce beschrieben loc. cit. Toxisch: es kann eine Industrievergiftung vorhergegangen sein.

Bemerkung 2: Verf. ist hiesigen Kollegen für Material und Angaben zu Dank verpflichtet. 12 Fälle entstammen dieser frdl. Zuweisung.

Tabelle II.

Chemische Zusammensetzung der Leber bei akuter gelber Atrophie. II. N-Verteilung. Kolloider (koagulabler) N; R-N mit $\overset{+}{\mathrm{Ur}}$N, NH_3, α-Amino N (frei und peptidisch geb.). Absolute Mengen, berechnet auf das feuchte Organ. Prozente, bezogen auf R-N und auf Gesamt-N (näheres im Text).

Nr.	Gesamt-N	N koagulierbar		N nicht koag. (= R-N) absolut; Proz. von Ges.-N	Aufteilung des nicht koagulierbaren N (R-N)							
					$\overset{+}{\mathrm{Ur}}$-N	NH_3-N	Kreatin – Kreatinin N		α-Amino N		Sonstiger N (P = gef. Purin)	Nicht best. N
							Kreatin	Kreatinin	frei	hydrolyt.		
1	2,239	1,927	86,0	0,312	0,0160	0,038	—	—	—	—	—	—
2	2,302	1,956	84,9	0,346	0,0172	0,052	0,020	0,004	0,124	0,073	—	0,052
3	2,079	1,823	87,6	0,256	0,0125	0,035	—	—	0,092	—	—	—
4	2,275	2,002	88,0	0,273	0,0150	0,031	0,031	0,003	0,110	0,023	—	0,06
5	2,083	1,823	87,5	0,260	0,0145	0,030	—	—	0,135	Spur < 0,01	—	—
6	2,422	2,101	86,7	0,321	0,0173	0,055	0,082	0,005	0,120	" < 0,01	—	0,03
7	2,642	2,222	84,1	0,420	0,0221	0,062	0,042	0,06	0,150	0,056	P. 0,042	0,04
8	2,064	1,803	87,3	0,261	0,0150	0,030	—	—	0,120	—	—	—
9	2,188	1,877	85,7	0,311	0,0181	0,062	—	—	0,11	0,042	P. 0,031	—
10	2,369	2,006	84,6	0,363	0,0138	0,045	0,04	< 0,002	0,142	0,031	—	—
11	2,308	1,905	82,5	0,403	0,0220	0,043	0,052	0,0030	0,170	0,010	P. 0,035	0,04
12	2,239	2,055	91,7	0,184	—	—	—	—	0,095	—	—	—
13	2,371	2,065	87,0	0,306	0,0148	0,0345	0,0145	0,0034	0,135	0,070	(3 mal Norm)	0,042
14	2,148	0,926	89,0	0,222	0,013	—	—	—	0,101	—	—	—
15	2,420	2,017	83,3	0,403	0,013	0,033	—	—	0,172	0,04	—	—
16	2,242	1,994	88,9	0,248	0,012	—	—	—	0,09	—	—	—
17	2,200	1,990	90,4	0,210	0,011	—	—	—	0,10	—	—	—
18	2,275	2,003	88,0	0,272	0,0131	0,029	0,030	< 0,002	0,130	0,038	—	0,03
19	2,083	1,876	90,0	0,207	0,018	0,043	—	—	0,101	—	—	—
20	2,057	1,892	91,9	0,165	—	—	—	—	0,099	0,03	—	—
21	2,422	1,991	82,2	0,431	0,016	0,044	0,052	0,007	0,165	0,037	P. 0,081	0,02
22	2,309	1,993	86,3	0,316	0,013	0,042	—	—	0,120	—	—	—
23	2,503	2,102	83,9	0,401	0,014	0,042	0,052	0,002	0,202	0,079	P. 0,032	0,01
24	2,392	2,002	83,6	0,390	0,012	0,055	0,032	—	0,181	0,030	P. 0,061	0,02

Zu Spalte „N nicht koag.": Prozentzahlen des R-N nach dem Gesamt-N sind leicht aus Stab 2 der Tabelle zugänglich. Minimum (Fall 20) ca. 8%. Maximum (Fall 21) ca. 17,8%. Großes Mittel ca. 87%—+4%.

Zu Spalte „$\overset{+}{\mathrm{Ur}}$-N": Prozente des $\overset{+}{\mathrm{Ur}}$N nach Gesamt-R-N um 5 gelagert, oder die Hälfte hart an diesem Werte. Maximum noch unter 10%. Minimum bis etwa 3%.

Tabelle I enthält die Sektionsgewichte der Organe mit prozentischer Verrechnung auf die vorauszusetzenden normalen „Soll"-Gewichte. Es folgen anatomische Angaben in kürzester Fassung. Im allgemeinen findet man die gleichen klinisch-pathologischen Typen, modifiziert durch den Verlauf und durch Komplikationen, in den Krankheitsbildern wieder. Besonders bedeutsam ist jetzt zweifellos die Kombination „Icterus syphiliticus praecox mit toxischer Salvarsanschädigung". Einzelne Fälle sind als luisch bestimmt oder mitbestimmt nicht erweislich gewesen (Feigl - Luce I usw.).

Tabelle I enthält ferner in Prozenten auf das tatsächliche Gesamtgewicht (feucht) der Leber verrechnet Wassergehalt und Trockensubstanz (1—3). Letztere wird durch Bestimmung des Gesamtfettes (4) und der Gesamtasche (5) aufgelöst. Berechnet ist der fett- und aschefreie Trockenrückstand (6).

Diese Restgruppe der Trockensubstanz ist durch den Gesamt-R-N weitgehend beeinflußt. Er hält sich durchgehend über 10% des koagulierbaren N, erhebt sich meist über 15% desselben und erreicht bzw. überschreitet noch häufig $^1/_4$ desselben (s. unten). Die Rechnung von Total-N (Tabelle II) zur Restgruppe der Trockensubstanz (Tabelle I) mit Hilfe des Eiweißfaktors ergibt nicht Übereinstimmung, sondern öfters mehr. Andererseits ist nicht sicher, ob der Trockenrückstand (Total) nicht durch Verluste an $\overset{+}{Ur}$, NH_3 und U erheblich modifiziert wird.

Auf die Durchführung der Einzelbesprechung zu Tabelle I sei verzichtet.

Insgesamt genommen, und den Zahlen der Literatur (s. oben) beigeordnet, lassen sich die Befunde folgendermaßen auslegen:

1. Erhöhte Wassergehalte (s. Literatur) kamen vor. 80% wird erreicht oder überschritten 4 mal (= rund 16% der Fälle), Maximum 83%. Legt man die Norm (76%) nach Wells, Stadie und van Slyke zugrunde, so sind nur die hart an oder über 80% liegenden Einzelbefunde zu beachten. Unter evtl. Einrechnung des Falles Nr. 3 würden das rund 16—17% der Reihe bleiben.

2. Läßt man den Bereich unter 78% bis hinab zu 72% als normal bzw. (auch im methodischen Sinne) als strittig gelten, so ergeben sich 13 Fälle (d. h. über 50% der Reihe), die gesenkte Trockengehalte aufweisen. Etwa 25% bleiben normal.

3. Senkungen kamen vor bis unter 60% (1 mal, Fall 23). Etwa 16% bleiben unter 66% Wassergehalt.

Soweit die statistisch-formale Auflösung. Beziehungen zum Organgewicht und zur Zusammensetzung der Trockensubstanz ergeben sich aus folgenden Beiordnungen:

a) Indem der Aschengehalt (s. später) einerseits, die fett- und aschefreie Trockensubstanz (selbst unter Anerkennung der Variationen im R-N-Gehalte) andererseits relativ wenig schwanken — bez. 1,4% → 0,6%; bez. 17,5% → 12,8% —, wenigstens in bezug auf die Gesamttrockensubstanz, so fallen die Variationen auf den Fettgehalt, der die größten (absolut und relativ) Ausschläge verursacht. Er steht in Beziehung zum Wassergehalt.

b) Je größer das Lebergewicht, desto höher — im Prinzip — der Wassergehalt, desto niedriger der Fettgehalt. Je weiter prozentisch (s. oben) das Organ einschmilzt, desto mehr rückt der Fettgehalt auf, steigt mit ihm die Trockensubstanz. Daß sie es nur mittelbar tut, erweisen die übrigen Fraktionen. Die Asche (s. später) läßt keine entscheidende prozentische Wandlung erkennen, ebensowenig die N-Gruppe. Doch hängt, wie gesagt, deren Ausdeutung vom Verhältnis R-N zu koagulierbarem N ab.

c) Wenn es in den geschilderten Verhältnissen möglich gewesen ist, mit zutreffenden Durchschnittsproben zu arbeiten, so eröffnet die Bewegung der schematischen Fraktionen die Möglichkeit zu pathologischen Kombinationen. Je weiter das Organ „schmilzt", desto mehr tritt N zurück, Fett hervor, desto mehr wird Wasser verdrängt (relativ).

In Berücksichtigung klinischer und anatomischer Vorbedingungen hat man auf Ernährungs- und Kräftezustand, Depotfett, Verlauf der Erkrankung in Beziehung zur mehr-minder starken Inanition usw., endlich auf Kombinationen zu sehen. Cirrhotische Veränderungen, erhebliche oder wenigstens greifbare toxische Einflüsse, Mitbeteiligung von Milz und u. U. Niere können sich zur Geltung bringen. Dabei kann die Lebersubstanz an sich schon Umformungen erleiden, wie speziell Hoppe-Seyler nachgewiesen hat. Auf diese vorbedingenden und im Krankheitsverlauf sich modifizierenden Grundlagen baut sich die typische Entwicklung, u. U. weitgehend abgeartet, auf. Trotzdem, und über die

ganze Reihe hinweg betrachtet, scheinen die schematischen Fraktionen der entwickelten Deutung zugängig.

4. „*Gesamtfett*" erscheint mit sehr wechselnden Werten. Nur 3 Fälle dürfen als normal gelten (1, 2, 5). Werte über rund 13,5% Gesamtfett (*Stadie* und *van Slyke*) kommen 11 mal, darunter 11 mal vor. Zwei Zahlen fallen mit obiger gleich. Danach dürften die amerikanischen Autoren u. U. (s. Methodik) einen Mittelwert gefaßt haben. Über 20% Fett der Durchschnittsprobe findet sich 4 mal. Das Extrem ist mit 25,4% gegeben.

In den gegebenen pathologisch-anatomischen Beziehungen prägt sich folgendes aus:

a) Normale und niedere Fettgehalte ($< 10\%$) sind sichtlich da gehäuft, wo die Lebergewichte noch relativ hoch erscheinen. Mit steigendem Einschmelzen steigt absolut (und relativ) das Gesamtfett an. Die pathologischen Anhalte weisen nicht nach, daß cirrhotische und andere Kombinationen dabei maßgebend werden. Die Verfettung scheint auch nicht im geraden Verhältnisse zur Länge der Erkrankung zu stehen, eher noch von deren Schwere abhängig zu sein (Beispiel Nr. 4 $\longleftrightarrow$ Nr. 5; Nr. 16 $\longleftrightarrow$ Nr. 17).

5. *Gesamtasche* unterliegt Schwankungen, die nicht statistisch und auch nicht einfach nach pathologischen Gesichtspunkten erklärbar ist.

6. Die *asche- bzw. fettfreie Trockensubstanz* (N-Körper) zeigt in bezug auf die Gesamttrockensubstanz ein Zurückweichen mit dem Geringerwerden des Organrestes.

Beispiele. *Fall* 2. Trockenrückstand (total) 19,8 $\rightarrow$ dgl. (restlich, N-Stoffe) 14,5 (rund 73%).

Fall 22. Trockenrückstand (total) 32,7 $\rightarrow$ dgl. (restlich, N-Stoffe) 14,4 (rund 44%).

Ähnlich liegen andere Fälle. Extrem sind folgende Bilder:

Fall 7. Trockenrückstand (total) 23,8 $\rightarrow$ dgl. (restlich, N-Stoffe) 17,5 (rund 72%).

Fall 20. Trockenrückstand (total) 39,5 $\rightarrow$ dgl. (restlich, N-Stoffe) 12,8 (rund 32%).

Bemerkungen. Zu den erörterten Fällen (Beispielen) ist hinzuzusetzen (s. u. Tab. II), daß der R-N im Gesamt-N verschiedenartig beteiligt sein kann.

Fall 2. 73% des Trockenrückstandes = N-Substanz; darin 15,1% R-N = rund 60% des Trockenrückstandes sind kolloider N (größtenteils Organ-N).

Fall 22. 44% (wie oben); darin 13,7% R-N = rund 38% (wie oben).
Fall 7. 72% (wie oben); darin rund 16,0% R-N = rund 60% (wie oben).
Fall 20. 32% (wie oben); darin rund 8% RN = rund 29% (wie oben).
Ferner **Fall 21.** Gesamttrockenrückstand 34,8%; dgl. (restlich, N 15,2% (rund 44%); 44% (wie oben); darin rund 17,8% R-N = rund 36% (wie oben).

Der R-N-Gehalt übt einen u. U. recht erheblichen Einfluß auf die Festsetzung des gesamten Trockenrückstandes aus.

Tabelle II enthält die Aufteilung des N-Bestandes.

1. Vom Gesamt-N sind im Mittel 87—84% kolloider N. Extreme 92% und 82%. Der Rest ist R-N (s. oben).

2. Der absolute N-Bestand erscheint relativ konstant in der Reihe. Die Verrechnung auf den Trockenrückstand klärt sein Zurückweichen mit sinkendem Organgewicht.

Die absoluten Zahlen schwanken zwischen 2,064 und 2,642 g; für 100 g feuchte Leber.

3. Der kolloide N (errechnet) ist nach 1. und 2. übersehbar. Grenze rund 1,8 g und rund 2,3 g.

4. Der R-N (relativ betrachtet s. oben) liegt absolut zwischen 160,0 mg und 431,0 mg für 100 g Leber. Zahlen an und über 400,0 mg sind Extreme. Gerade Verhältnisse zum Wassergehalt, Trockenrückstand, kolloidem N, Fettgehalt, Länge und Schwere der Krankheit wie zu pathologischen Sonderverhältnissen lassen sich nicht aufzeigen.

Bemerkung. Ebensowenig ist es möglich gewesen, den letalen Blut-R-N direkt proportional zum letalen Leber R-N und — überbrückt — zu den Harn-N-Zahlen zu finden. Es darf daran gedacht werden, daß Sonderfaktoren des Stoffwechsels und seiner Intensität dazwischen treten.

Auch relativ wenig verkleinerte Lebern zeigen schon hohen R-N, möglicherweise, weil viel abbauwürdiges Material vorhanden ist und weil adsorbierende Organsubstanzen noch wirksam oder reichlich da sind.

5. Genaueren Einblick gibt — bis zum gewissen Grade allerdings nur — die Aufrechnung innerhalb der Trockensubstanz. Im übrigen sind Durchschnittsanalysen des Gesamtorgans nicht imstande, mit aller Schärfe zu demonstrieren, wie seine Zusammensetzung sich letal gestaltet.

In allerletzter Zeit hatte ich Gelegenheit, Organmaterial zu untersuchen mit rund 680,0 g Restgewicht (30% der Norm), 18%

Fett, 2,6% Total-N, von dem wiederum 67% koagulabel waren. (= 34% Rest-N mit rund 866,0 mg für 100 g frischen Leberbrei).

6. Die Gliederung des R-N weist auf

a) hohen α-Aminosäure-N (90,0 mg $\rightarrow$ 202,0 mg) mit freien Gruppen. Sehr verbreitet sind Werte über 120,0 mg; relativ verbreitet solche über 150,0 mg. Peptidische Formen erscheinen mit Werten zu 30,0—73,0 mg.

Ersterer macht im R-N 30—60% aus, letztere ebenso 7—30%.

Beziehungen irgend ersichtlicher Art zwischen beiden Gruppen bestehen im Kreise der gegebenen Kombinationen offenbar nicht.

Beispiele:

Fall 2. R-N 346,0 mg	α-Amino-N frei 124,0 mg,	dgl. peptidisch	73,0 mg
Fall 5 „ 260,0 mg „	„ „ 135,0 mg	„ „	< 10,0 mg
Fall 23 „ 401,0 mg „	„ „ 202,0 mg	„ „	79,0 mg

Fall (letzter, s. o. unter 5)

R-N 866,0 mg, α-Amino-N frei 327,0 mg, dgl. peptidisch 120,0 mg.

Der α-Amino-N beider Gruppen kann im R-N 50—88% darbieten. Er kann die Norm oft dreifach, ja siebenfach und, im Extrem, zehnfach darstellen.

b) Die Gruppe Harnstoff, Ammoniak erscheint in folgenden Verhältnissen:

$\overset{+}{\mathrm{Ur}}$N ist — schwankend — stets vertreten mit Mengen von 10,0—20,0 mg für 100 g Leber. In Prozenten von R-N angesehen, kann der $\overset{+}{\mathrm{Ur}}$N ganz — bis zu 2 — zurücktreten. Unter Einhaltung aller Beurteilungsmöglichkeiten kann man sagen, daß die $\overset{+}{\mathrm{Ur}}$-Bildung, errechnet auf die Lebermasse, mit der Schwere des Falles, d. i. mit dem Abschmelzen des Organs, zurücktritt. $\overset{+}{\mathrm{Ur}}$ findet sich aber auch in Durchschnitten stets. Ammoniak-N erscheint stets höher, meist doppelt so hoch wie $\overset{+}{\mathrm{Ur}}$N, mit Zahlen an und um 10% (Mittel; 4% $\rightarrow$ 22%) des R-N.

Methodisch betrachtet sind die Werte für $\overset{+}{\mathrm{Ur}}$N bzw. NH_3-N heute genau genug faßbar. Sie hängen aber vom Zustande des Organs ab und werden, auch bei Kühlraumleichen und tunlichst frischer Verarbeitung, nicht frei sein von fallweiser Unsicherheit. Vorwegnehmende Anhalte aus speziellen Tierversuchen leiten mich zur Ansicht, daß bei 24 Std. Verweilen im Kühlraum der Fehler rund 5—8% betragen, aber u. U. größer werden kann.

Auch in dem extremen Falle (s. oben) war $\overset{+}{\mathrm{Ur}}$N vorhanden. Prozente im R-N 1,8.

c) Zurücktreten müssen in der Diskussion einstweilen die übrigen N-Gruppen. Zu ihrer Auswertung scheinen normale und sonstige Organbefunde unerläßlich.

Nachdem für eine Reihe von Fällen erstmalig eine nicht unerhebliche Fettanhäufung in Organresten erwiesen wurde, ergab sich die Frage nach dem Aufbau des Gesamtfettes.

Etwa übereinstimmend m t Fex sind wir nach zahlreichen, später zu gebenden Beobachtungen geneigt, folgende Verhältnisse zugrunde zu legen.

Norm: Wassergehalt 74—77%. Gesamtfett 2,6—3,6%. Gesamtcholesterin der feuchten Substanz 0,240—0,420% (1,0—1,7% der Trockensubstanz).

Auf 300 g Gesamtfett können kommen <240,0 mg / 420,0 mg → 300,0 mg Gesamtcholesterin.

In unseren Fällen ist nach kurzer Fassung folgendes anzugeben:

Normales Gesamtfett (4 Fälle, s. o.)	mit 220,0 mg bis 328,0 mg	Gesamtcholest.
Gesamtfett um rund 10%	mit 340,0 mg bis 510,0 mg	„
Gesamtfett um rund 17%	mit 500,0 mg bis 720,0 mg	„
Gesamtfett über 20%	mit 520,0 mg	Gesamtcholesterin.
	610,0 mg	
	710,0 mg	
	825,0 mg	

Zweifellos kommt bei gesteigertem Gesamtfett sonach Gesamtcholesterin absolut gesteigert mit vor. Relativ tritt es gegen die Proportion der Norm recht merkbar, z. T. erheblich zurück. Hohe Lebergewichte mit wenig Fett können relativ geringes Cholesterin darbieten oder vortäuschen.

Es unterliegt auch keinem Zweifel, daß in den langfristig verlaufenden Fällen mit starker Fettanhäufung endlich Cholesterin wieder relativ seinen anfänglichen Verlust — z. T. — ausgleicht. Das Bild erscheint danach dasselbe zu sein wie bei allen Fettanhäufungen; Cholesterin folgt langsam und relativ gesenkt der Fetteinwanderung oder Anstauung nach. Die ungemein komplizierten Vorbedingungen und Einflüsse aufzuklären oder ihnen wenigstens nachzuspüren, kann erst an Hand größeren pathologischen Materials möglich sein.

Wie die R-N-Mengen und Strukturen vom Organ aus die Bilder des Blut-R-N beeinflussen und anschaulich machen, tut es die Organverfettung in bezug auf die oft gesteigerten Lipämiewerte.

Nimmt man in der Norm $^1/_4$—$^1/_3$ (große Mitte) des Gesamtcholesterins als verestert an, so hat man Anhalt für die Verhältnisse im atrophischen Organrest.

Man findet weiteste Variationen. Anfänglich scheint die Norm, auch bei den Senkungen des Cholesterins, beibehalten zu werden, hernach kommen sowohl Anreicherungen des freien wie des gebundenen Cholesterins in Frage. Für erstere Form sprechen Zahlen wie 340,0 mg Gesamtcholesterin mit 22,0 mg Estercholesterin bzw. 510,0 mg mit 42,0 mg.

„Lecithin“ (Gesamtphosphatid) tritt, wie hier zu erwähnen ist — die Darlegung erfolgt im Verbande mit den Aschenbestandteilen — weit, u. U. so weit zurück, daß in den Organresten strenge Werte für „Gesamtphosphatid“ kaum mehr zugänglich sind. Im Durchschnittsbilde findet man stets Lecithin, in Organabschnitten tritt obiges fast stets ein.

Durch die Güte des Herrn Fahr habe ich Einblick nehmen können in die mikroskopisch-anatomischen Ergebnisse und ihre Ausdeutung. Es kommen von den Fällen unserer Anstalt 9 Präparate in Frage.

Im Verfolg der Fexschen Kontrollstudien zu den Landau-Mac Neeschen Parallelen ergab sich folgendes:

Parallelität zwischen der mikroskopischen Methodik und der chemischen Isolierung bestand nicht. Ich bestätige danach ausdrücklich die Beobachtungen von Fex, muß aber a. a. O. auf die eminent wichtige Sonderfrage zurückkommen.

$^2/_3$ der Fälle gab mikroskopisch ein durchaus anderes Bild als die chemische Aufarbeitung entwarf. Durchgehend blieb in ersterer Methodik Fett und Cholesterin zurück.

In obigen Tabellen ist nun stets das Bestreben nach Durchschnittsbildern zum Ausdrucke gekommen. Dieses Vorgehen ist in der Literatur durchaus üblich und herrschend. In jahrelangen Organuntersuchungen haben wir uns bestrebt, regionäre Einzelbilder zu gewinnen und dem Durchschnitt beizuordnen. Letzterer verwischt manche wichtigen Züge. Bestärkt besonders durch Hoppe-Seyler haben wir das seit 1914 immer wieder verfolgte, oft wegen der Mühewaltung lästige Bestreben beibehalten. Auch diese Ergebnisse gehören, schon früher angedeutet, sinngemäß in andere Arbeitsreihen. Die Hauptatsachen mögen aber in folgenden Extremen benannt werden. Durch die präparativ-ana-

tomische Vorarbeit nach Hoppe-Seyler schaltet man sonst sehr leicht mögliche Fehler weitgehend aus. Durchmustern des Organs führt zur Wahl von Einzelabschnitten, die getrennt und nach Vereinigung als Durchschnittsprobe zur Untersuchung gelangen. Ist man nun auch gewillt, die Fehlerquellen und Fehlermöglichkeiten der Organanalyse nicht zu engherzig einzuschätzen, so ergeben sich doch bedeutsame Differenzen.

Fall 1:	Trockengehalte	17,2;	17,9;	19,0;	19,1;	19,2;	18,6;	18,4;	18,8;	18,2 →	18,5 (Durchschn.)
	Fettgehalte .	2,7	—	—	—	3,7	—	3,2	—	3,2	3,2 „
	Total-N . .	2,4	—	—	—	2,2	—	2,25	—	2,8	2,24 „
	R-N	362,0	—	—	—	290,0	—	302,0	—	—	312,0 „
	$\overset{+}{\mathrm{Ur}}$	18,0	—	—	—	14,0	—	15,0	—	—	16,0 „
Fall 2:	Reihenfolge	27,0	—	24,0	—	20,2	—	21,0	—	—	24,5 „
	wie vor-	5,2	—	9,9	—	14,5	—	9,6	—	9,7	9,8 „
	stehend	1,82	—	—	—	2,34	—	2,2	—	2,0	2,19 „
	unter	272,0	—	—	—	365,0	—	305,0	—	315,0	311,0 „
	Fall 1	8,7	—	9,5	—	26,0	—	16,0	—	12,0	18,0 „

Neben obigen Zahlen, in denen nicht die summierbaren Details, sondern der Hauptsache nach Extreme zu geben sind, haben wir zahlreiche weitere aufzuführen.

Sie zeigen einmal größere Differenzen, die im Wassergehalte einerseits, im Aufbau der Trockengehalte andererseits zur Geltung gelangen. Mit steigendem Wassergehalte steigt der R-N. Da nicht sowohl Aminosäuren vorherrschen, vielmehr $\overset{+}{\mathrm{Ur}}$ angereichert scheint, sind ebendort, wo weniger Fett angehäuft ist, die noch weniger geschädigten Elemente zu suchen. Da aber $\overset{+}{\mathrm{Ur}}$ permeabel ist, wird man ohne postmortale Einflüsse der Diskussion wohl nicht durchaus gerecht. Es schwankt also einmal das Totalfett — in ihm wiederum der relative Lipoidanteil —, ferner der N-Bestand. In diesem kann sowohl der Total-N wie sein Aufbau abweichen. Wir haben den Eindruck, und Befunde sprechen dafür, daß gewisse Abschnitte u. U. sogar verschmierte, mit fortwährend weiter zersetzten Zelltrümmern spärlich durchsetzte Massen darbieten, während andere nicht annähernd soweit der Autolyse anheimgefallen sind. In ersteren konnten einmal bei einem zweifellos günstigen Falle Aminosäuren in schwerlöslichen Krystallen (Tyrosin, Leucin neben Fettsäureschuppen) abgehoben werden. Sie waren umkleidet von abgewandeltem Gallenfarbstoff. Dennoch ist, auch wenn man allen Komplikationen des Krankheitsbildes gerecht wird, zweifellos anzunehmen, daß der Abbau mit der Hinterlassung von Resten endet, in denen die trägen Fette, selbst

weiteren Zersetzungen anheimfallend, sich fortschreitend anreichern. Ebenso ist innerhalb des Organs mit ganz achtbaren Differenzen in den maßgebenden Funktionen zu rechnen, über die Durchschnittsanalysen kein zutreffendes Bild zu geben vermögen, obschon sie ihrerseits wohl unentbehrlich sind und bleiben.

Vergleiche mit der eingangs dargelegten Literatur seien angedeutet.

Systematisch durchforscht ist nur 1 Fall (Stadie und van Slyke). Neben diesen treten unsere. Sie illustrieren das R-N-Gebiet mit weiteren Möglichkeiten.

Schematisch-analytisch bez. Fett, Trockensubstanz liegen die genannten Fälle (Stadie und van Slyke 1, Hoppe-Seyler 2, Wells einzelne) vor. Unsere Reihen zeigen, daß Fettanhäufungen vorkommen, die bisher nicht beschrieben sind, und versuchen, einer Verknüpfung zu dienen. Auch die Bewegungen des Wassergehaltes werden wesentlich reichhaltiger dargestellt.

Regionäre Detailanalysen liegen bei Hoppe-Seyler (1 Fall schematisch) vor. Sie werden eingehend beschrieben.

Die Fraktion des Gesamtfettes wird erstmalig durch Cholesterinuntersuchungen ergänzt. Den Arbeiten Hoppe-Seylers steht unsere Zusammenstellung nach, da nicht in allen Fällen die Parenchymbestimmung (s. oben) durchgeführt wurde. Mit Bezug auf den Fall 1 des Autors (s. dort, S. 294) haben wir 5 Fälle entsprechend durchgearbeitet. Wir gelangen für die Fälle 1, 6, 12, 16, 22 zu folgenden beziehentlichen Werten 158 g, 134 g, 110 g, 92 g, 78 g.

Zweifellos dürfen die früheren Schlußfolgerungen auch an dieser Stelle als berechtigt angesehen werden. Obschon trotz zahlreicher möglicher Kombinationen die Grundtendenz der schweren Stoffwechselstörung in allen Zügen prinzipiell die gleichen Linien erkennen läßt, kann der Endzustand auf verschieden langen und verschieden beschaffenen Wegen erreicht werden. Die meisten Abweichungen sind und bleiben gradueller Natur. Indes beziehen sich Analysenbilder über den Zustand des Organrestes offenbar niemals proportional auf die entsprechenden blutchemischen und harnchemischen Beobachtungen. Auch wenn funktionelle Intaktheit der Niere angenommen wird, was meistens der Fall ist, wird man die Mitwirkung fremder Faktoren zugeben müssen.

Die nächst benachbarten Literaturen enthalten folgende hier interessierende Angaben. Hoppe-Seyler findet bei cirrhotischer Fettleber 33 und 35% Gesamtfett, auch 16 und 11%. Wells schwebt offenbar der Gedanke vor, daß P-Intoxikation wesentliche gewaltsame Verfettungen bringen kann. Gegen 8,7% (Maximum bei Atrophie) benennt er 25 und 30%. Stadie und van Slyke meinen, daß die P-Vergiftung so energisch und brutal Fett anhäuft, daß in dem kurzen Verlaufe eine Liquidation der Massen nicht mehr vor sich gehen kann. Sie schätzen normalerweise die fettfreie Trockensubstanz zu 20% der frischen Leber ein.

Glykogen fand sich in unseren Fällen 10, 16, 20, zu 0,01; 0,05, spurenweise, und wurde nur in den relativ wenig geschädigten Partien bei Detailproben zu 0,06—0,01% vorgefunden.

Auf die Fexschen[1]) wertvollen Studien, ferner auf Hoppe-Seylers grundlegende Arbeit, endlich auf neue Untersuchungen von Geelmuyden[2]) ist unter Anknüpfung an frühere, im Interesse der in vorliegender Arbeit zurückgestellten Aufgaben demnächst einzugehen.

[1]) Joh. Fex, loc. cit., spez. S. 159ff,. Tab. XIIIff.

[2]) H. Chr. Geelmuyden, Acta med. Skand. 53, 4, 381. 1920. Ber. für die ges. Physiol. 3, 446. 1920 (Ref. Lesser).

Über die sogenannte oligodynamische Wirkung von Schwermetallen und Schwermetallsalzen.

Von

W. Falta und M. Richter-Quittner.

(Aus dem chemischen Laboratorium des Kaiserin Elisabethospitals in Wien.)

(Eingegangen am 25. Dezember 1920.)

Vor 3 Jahren hat P. Saxl neuerdings die Aufmerksamkeit auf die von Naegeli entdeckten oligodynamischen Wirkungen gewisser Metalle gelenkt. Nach Naegeli erteilen Kupfer, Silber, Blei und Zinn dem Wasser keimtötende Eigenschaften, während sich reines Gold und Platin als unwirksam erwiesen. Naegeli beobachtete bereits, daß das Glas, in welchem das Wasser gestanden war, diese Eigenschaften annimmt und auf neu eingefülltes Wasser überträgt. Er bezeichnet dies als Nachwirkung. Da Naegeli im Wasser, das einige Zeit über Kupfer gestanden war, geringe Spuren von Kupfer nachweisen konnte, nimmt er an, daß auch die anderen Metalle in geringsten, wenn auch mit unseren analytischen Methoden nicht nachweisbaren Mengen in Lösung gehen, und daß die von ihm beobachteten biologischen Wirkungen auf die in der Lösung in ungeheuerer Verdünnung vorhandenen Metalle zurückzuführen sei.

Die Versuche Saxls, in welchen er zeigen konnte, daß Silber und Kupfer keimtötend wirken, und diese Eigenschaft auch auf Glas übertragen können, haben zahlreiche Publikationen veranlaßt, auf die wir hier nicht näher eingehen wollen. Wir haben uns auch vor 3 Jahren mit dem Studium der sog. oligodynamischen Wirkungen befaßt und wollen nun in aller Kürze einige diesbezügliche Beobachtungen mitteilen, die vielleicht für Biologen und Chemiker von Interesse sein können.

Wir haben die chemischen Wirkungen folgender Metalle in unendlich großer Verdünnung untersucht: Kupfer, Quecksilber, Silber, Blei, Zinn, Zink, Aluminium, Eisen, Magnesium, Platin.

Zur Methodik der Phosphorsäurebestimmung.

Anwendung des Preglschen Verfahrens auf die Serumanalyse.

Von

Stella Wiener.

Aus der ersten med. Klinik in Wien. [Vorstand: Prof. K. F. Wenckebach].

(Eingegangen am 30. Dezember 1920.)

In letzter Zeit wurden viele Methoden zur Bestimmung der Phosphorsäure im Serum neu angegeben oder ältere vervollkommnet. Während bei der Enteiweißung, soweit sich die Literatur überblicken läßt, stets dieselbe Methode der Fällung mit Pikrin-Essigsäure zur Anwendung kam, die die Trennung in zwei Fraktionen gestattet, wurden zur Bestimmung der Phosphorsäure verschiedene Wege eingeschlagen. Gravimetrisch wurde sie z. B. neuestens von Kleinmann[1]) als komplexe Bleimolydadphosphorsäure bestimmt, colorimetrisch ebenfalls von Kleinmann, nephelometrisch von Greenwald[2]), Taylon u. Miller[3]), Feigl[4]), Kleinmann usw. als Strychninmolybdänphosphorsäure und zuletzt titrimetrisch von Iversen[5]), der die alte Methode von Neumann[6]) modifiziert hat.

Zur Lösung einer Reihe von biologisch und klinisch interessanten Fragen erschien eine verläßliche und doch einfache gravimetrische Methode zur Bestimmung der Phosphorfraktionen in relativ kleinen Serummengen um so wünschenswerter, als sich in der Literatur auf gravimetrischem Wege erhaltene Werte für das menschliche Normalserum kaum finden lassen.

Ich habe auf Veranlassung von H. Elias versucht, ein solches Verfahren durch Anwendung der Preglschen Mikromethode auszuarbeiten.

---

1) Diese Zeitschr. **99**, 19—150. 1919. Daselbst Literatur.

2) Diese Zeitschr. **102**, 131. 1920.

3) Journ. of biolog. Chem. **12**, 29. 1915.

4) Journ. of biolog. Chem. **18**, 215. 1914. **21**, 255. 1915.

5) Diese Zeitschr. **104**, 15. 1920.

6) Zeitschr. f. physiol. Chem. **37**, 115. 1903.

Was Kleinmann gegen die Preglsche Methode[1]) vorbringt, — Kompliziertheit der Apparatur usw., besondere Wage, ist nicht stichhältig, da man die Wägungen mit fast derselben Genauigkeit auf einer Makrowage ausführen kann, und die notwendigen Utensilien, nämlich Filterröhrchen und Heber, von jedem Glasbläser nach den Preglschen Angaben hergestellt werden können.

Die Enteiweißung. Nach den Angaben von Richter-Quittner[2]) käme nur die Enteiweißung mit Schwermetallsalzen, mit Ferrum oxydatum dialysatum und mit Pikrin-Essigsäure in Betracht. Die Enteiweißung mit Schwermetallsalzen ist aber wegen der Fällbarkeit der Phosphorsäure durch Schwermetallsalze nicht anwendbar. Unser Ferrum oxydatum dialysatum erwies sich als Cl-hältig und darum für unsere Zwecke als unbrauchbar, da Cl die Fällung der Phosphorsäure durch Ammonmolybdat stört. Wir hielten uns darum an die Fällung durch Pikrinessigsäure (0,5% Pikrinsäure, 1% Essigsäure). Zur Bestimmung des säurelöslichen Phosphors genügt es, 10 ccm Serum mit 90 ccm Pikrinessigsäure zu fällen.

Je 40 ccm des enteiweißten Filtrates werden mit 1 ccm konzentrierter Schwefelsäure in einem 100 ccm fassenden Kjelldahlkolben bis zur Gelbfärbung verascht. Dann wird durch 2—3 malige Zugabe von 1 ccm konzentrierter Salpetersäure soweit oxydiert, daß beim Verdünnen mit Aqua destillata die Flüssigkeit, wie schon Iversen (l. c.) aufmerksam macht, nicht durch noch nicht völlig zerstörte Pikrinsäure gelb wird.

Das veraschte Serum wird mit 2 ccm Salpetersäure (357 ccm Salpetersäure spez. Gew. 1,4 mit 500 ccm Wasser) und mit destilliertem Wasser in demselben Kolben, in dem es verascht wurde (vgl. Iversen), auf ca. 15 ccm aufgefüllt, auf dem Drahtnetz zum Sieden gebracht und mit 15 ccm Sulfatmolybdänreagens gefällt. Im übrigen wird genau nach Pregl verfahren. Da Pregl eine gewisse Säurekonzentration als notwendig angibt, wurde zunächst das veraschte Serum durch 33% Kaliumcarbonatlösung neutralisiert und erst dann nach Pregl verarbeitet. Doch ist dies, wie die nachfolgende Tabelle I zeigt, nicht notwendig, wenn man sich beim Veraschen an die oben angegebenen Säuremengen hält.

---

[1]) Die quantitative organ. Mikroanalyse. 1917. Verlag von J. Springer. S. 109—119.

[2]) Diese Zeitschr. 95, 179. 1919.

Tabelle I.

	Phosphormenge in 1 ccm Serum		
	Bestimmt n. Pregls Angaben mg	Gefällt in der Veraschungsflüssigkeit ohne Neutralisation u. Säurezusatz mg	Differenz in %
Normalserum Nr. 1	0,0574	0,0572	0,35
Normalserum Nr. 2	0,0552	0,0554	0,36
Pferdeserum	0,0630	0,0617	2,08

Um den Lipoidphosphor zu bestimmen, wurde der Eiweißniederschlag dekantierend mit Pikrinessigsäure gewaschen, vom gehärteten Filter abgespritzt und mit 3—4 ccm Schwefelsäure verascht. Das Veraschte wurde mit Kaliumcarbonat neutralisiert und dann wie gewöhnlich verarbeitet. Es erwies sich aber als einfacher, den Phosphorgehalt des Gesamtserums zu bestimmen und den Lipoidphosphor daraus durch Subtraktion des säurelöslichen Phosphors vom Gesamtphosphor zu berechnen. Dadurch entfällt das quantitative Trennen des voluminösen Eiweißniederschlages vom Filtrat, das Zurückspülen in den Kolben und das zeitraubende Veraschen dieses Niederschlages, das durch heftiges Stoßen große Schwierigkeiten macht.

Beim Veraschen des Gesamtserums verfährt man genau so wie früher. Es genügt, 2 ccm Serum mit 1 ccm konzentrierter Schwefelsäure zu veraschen. Hierbei wird aber nur bis zur Schwarzfärbung gewartet und dann mit dem Zusatz von konzentrierter Salpetersäure begonnen. Diese Veraschung dauert etwas länger als die des Filtrates. Sollte die Masse im Kolben zusammengebacken sein, so empfiehlt es sich vor der Zugabe von Salpetersäure noch 1—2 ccm konzentrierte Schwefelsäure zuzufügen.

Zur Kontrolle wurde in mehreren Fällen der Lipoidphosphor einerseits als Differenz von Gesamt- und Säurephosphor berechnet, andererseits in dem ausgewaschenen Eiweißniederschlag durch Wägung direkt bestimmt. Dabei wurde eine hinreichende Übereinstimmung gefunden, wie aus Tabelle II hervorgeht:

Zur Vermeidung von Fehlern sei noch besonders darauf aufmerksam gemacht, daß alle zur Bestimmung nötigen Glassachen, besonders der Heber, mit Schwefelchromsäure entfettet

Tabelle II.

	Phosphormenge in 1 ccm Serum.				
	Gesamt-phosphor mg	Säure-löslicher Phosphor mg	Lipoidphosphor direkt bestimmt mg	Lipoidphosphor berechn. als Differenz mg	Differenz zw. Berechnung u. Bestimmung %
B. H. Veronalvergiftung	0,12973	0,06231	0,06826	0,06742	1,24
C. D. Normal	0,13594	0,06234	0,07922	0,07360	0,81
K. F. Normal	0,08598	0,04285	0,04343	0,04313	0,69

und mit Aqua destillata gut nachgewaschen werden müssen, damit der Niederschlag nicht an der Wand haftenbleibt. Daß die Apparatur gut schließen muß, ist wohl selbstverständlich.

Ist man gezwungen, mit einer Makrowage zu arbeiten, so würde es sich empfehlen, in einer größeren Serummenge die Bestimmung durchzuführen, etwa in der anderthalbfachen Menge (bei Vollserum 3 ccm statt 2 ccm, beim säurelöslichen Phosphor 60 ccm Filtrat statt 40 ccm). Der Zusatz an Schwefelsäure müßte dabei nicht erhöht werden, doch würde die Veraschung etwas mehr Zeit in Anspruch nehmen. Doch auch bei Verwendung der oben für die Mikrowage angegebenen kleineren Serummengen würde sich der Fehler durch die Benützung der Makrowage nur um ca. $^1/_2$—1% erhöhen.

Die Adsorption der Alkalichloride an Tierkohle[1].

Von

Hans Hartleben.

(Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität Halle-Wittenberg.

(Eingegangen am 30. Dezember 1920.)

Mit 1 Abbildung im Text.

Zur Erklärung biologisch-chemischer Vorgänge sind in den letzten Jahren schon verschiedentlich Adsorptionsvorgänge herangezogen worden.

So sind namentlich organische Stoffe in dieser Richtung viel untersucht worden, weniger aber die Elektrolyte, über deren Adsorption an Oberflächen zuerst von Rona und Michaelis[2]) grundlegende Versuche angestellt worden sind, die in der vorliegenden Arbeit eine gewisse Vervollständigung erfahren haben insofern, als die Chloride der Alkalien systematisch durchuntersucht wurden.

Es lagen bis jetzt nur in der genannten Arbeit Angaben über Natrium und Kalium vor. Die Veranlassung, gerade die Alkalichloride zu untersuchen, war durch folgendes Problem gegeben.

Untersuchungen, die von H. Straub und Meier[3]) über die Chlorionenpermeabilität menschlicher Erythrocyten angestellt worden sind, haben das Ergebnis gezeitigt, daß nicht, wie bisher angenommen worden war, eine isolierte Anionenpermeabilität der roten Blutkörperchen besteht. Die beobachteten Erscheinungen lassen sich vielmehr im Rahmen der bisherigen Vorstellungen am besten unterbringen unter der Annahme, daß die Membran der roten Blutkörperchen ziemlich plötzlich für Anionen durchlässig wird, wenn die Wasserstoffionenkonzentration der Suspensionsflüssigkeit eine bestimmte, wohl charakterisierte Höhe erreicht. Das Durchgängigwerden geschieht dann wahrscheinlich infolge einer Änderung des Kolloidzustandes der Plasmahaut. Es hat sich nun bei weiteren Forschungen[4]) die interessante Tatsache ergeben, daß Alkalikationen einen bestimmenden Einfluß auf den Zustand der Membran der roten Blutkörperchen haben. Es zeigte sich, daß durch die Alkalikationen die Wirkung des Wasserstoffions auf den Kolloidzustand der Membran unterstützt wird. Es wurde die Wasserstoffzahl durch die Gegenwart von Alkalikationen verschoben, die Zustandsänderung erfolgte je nach der Art des zugefügten Alkalikations früher, also bei geringerer Anzahl freier Wasserstoffionen

---

[1]) Inaug.-Diss. Halle 1920. Medizin. Fakultät.

[2]) Rona und Michaelis, diese Zeitschr. 94, 240. 1919.

[3]) H. Straub und Kl. Meier, diese Zeitschr. 98, 205. 1919.

[4]) H. Straub und Kl. Meier, a. a. O., S. 228.

in der Suspensionsflüssigkeit. Dabei wurde gefunden, daß die einzelnen Alkalichloride nicht in gleicher Weise unterstützend wirken, sondern die Wirkung war um so größer, je höher das Atomgewicht des betreffenden Elementes ist. Lithium und Natrium verhielten sich gleich. $Li = Na < K < Rb < Cs$.

Es fragte sich nun, wodurch diese verschiedene Wirkungsweise erklärt werden kann. Es bestehen zunächst zwei Möglichkeiten. Es kann sich um spezifische Wirkungen der betreffenden Elemente handeln. Dann aber wurde auch in Betracht gezogen[1]), daß Adsorptionsverhältnisse eine Rolle dabei spielen können. Dies könnte in dem Sinne der Fall sein, daß die Alkaliionen verschieden stark an Oberflächen adsorbiert werden, vielleicht sogar in proportionalem Verhältnis zum Atomgewicht. Die das Wasserstoffion unterstützende Wirkung der Alkaliionen fände dann seine Erklärung in den verschiedenen Adsorptionsgraden der einzelnen Alkalien an die Membranen der roten Blutkörperchen. Da die Frage nach dem Wirkungsmechanismus der Alkalikationen ganz allgemeine und grundsätzliche biologische Bedeutung besitzt, mußte versucht werden, eine Entscheidung zwischen beiden Möglichkeiten zu treffen.

Es kam also darauf an, zu versuchen, ob Anhaltspunkte für eine der Erklärungsmöglichkeiten experimentell zu finden waren. Dies geschah im vorliegenden Fall dadurch, daß die Adsorption der Alkalichloride an Oberflächen systematisch durchuntersucht wurde. Und zwar wurden die Oberflächen hergestellt durch eine relativ große Menge fein verteilter Tierkohle. Dabei war es von großer Bedeutung, daß die oben erwähnten Untersuchungen von Rona und Michaelis vorlagen, deren Ergebnisse über die allgemeinen Gesetzmäßigkeiten bei der Adsorption von Elektrolyten an Tierkohle bei der Arbeit verwertet werden konnten. Es muß die Feststellung der genannten Autoren besonders betont werden, daß bei Adsorption eines Salzes an Tierkohle der Adsorptionsgrad eines Anions bei gegebener Konzentration und unter sonst gleichen Bedingungen abhängig ist von der Natur des Kations, mit dem es den Elektrolyten bildet. Andererseits ist wichtig, daß Anion und Kation in äquivalenter Menge adsorbiert werden, da bei Adsorption des Kations die elektrisch äquivalente Anionenmenge durch elektrostatische Zugkräfte an der Oberfläche festgehalten wird. Das hatte für die praktische Ausführung der Untersuchungen den Vorzug, daß es genügen konnte, einfach den Chlorgehalt der Lösungen zu bestimmen.

Es wurde im einzelnen analog der Methodik von Rona und Michaelis folgendermaßen vorgegangen: 100 ccm der Lösungen von der Nor-

[1]) Vgl. Straub u. Meier, a. a. O.

malität 0,025 bis 0,1 wurden mit 15 g Tierkohle (Carbo animalis Merck zu medizinischen Zwecken) eine halbe Stunde stets gleichmäßig im Schüttel apparat geschüttelt. Die Tierkohle war vorher sorgfältig chlorfrei ge waschen und wieder getrocknet worden. Sofort nach dem Schütteln wurde filtriert und die Normalität des Filtrates bestimmt. Natürlich wurden mehrfache Kontrollbestimmungen vorgenommen. Die Bestimmung des Chlorgehaltes der Lösungen erfolgte nach der Methode von Volhard-Salkowski. Eine gewisse Fehlerbreite der ganzen Anordnung muß mit in Kauf genommen werden, doch ist diese klein genug, so daß die Werte durchaus vergleichbar sind und auch zu den von Michaelis und Rona für Natrium mitgeteilten gut stimmen; für Kalium findet sich eine Differenz, die wohl innerhalb der Fehlerbreite liegt. Es ergaben sich folgende Werte:

	Normalität der zu untersuchenden Lösung	Normalität der mit Tierkohle geschüttelten Lösung	Adsorbierte Menge, ausgedrükt durch die Differenz
LiCl	0,0250	0,0205	0,0045
LiCl	0,0250	0,0205	0,0045
LiCl	0,0250	0,0199	0,0051
LiCl	0,0250	0,0205	0,0045
LiCl	0,0500	0,0447	0,0053
LiCl	0,0500	0,0432	0,0068
LiCl	0,0500	0,0434	0,0066
LiCl	0,0500	0,0434	0,0066
LiCl	0,1010	0,0930	0,0080
LiCl	0,1010	0,0919	0,0091
LiCl	0,1010	0,0930	0,0080
NaCl	0,0250	0,0205	0,0045
NaCl	0,0250	0,0205	0,0045
NaCl	0,0250	0,0199	0,0051
NaCl	0,0250	0,0202	0,0048
NaCl	0,0509	0,0442	0,0067
NaCl	0,0509	0,0434	0,0075
NaCl	0,0509	0,0439	0,0070
NaCl	0,0509	0,0434	0,0075
NaCl	0,1030	0,0930	0,0100
NaCl	0,1030	0,0930	0,0100
NaCl	0,1030	0,0930	0,0100
NaCl	0,1030	0,0934	0,0096
KCl	0,0244	0,0190	0,0054
KCl	0,0244	0,0199	0,0045
KCl	0,0244	0,0197	0,0047
KCl	0,0240	0,0190	0,0050
KCl	6,0240	0,0188	0,0052
KCl	0,0505	0,0423	0,0082
KCl	0,0505	0,0422	0,0083
KCl	0,0505	0,0422	0,0083
KCl	0,0990	0,0890	0,0100

	Normalität der zu untersuchenden Lösung	Normalität der mit Tierkohle geschüttelten Lösung	Absorbierte Menge, ausgedrükt durch die Differenz
KCl	0,0990	0,0890	0,0100
KCl	0,0990	0,0890	0,0100
RbCl	0,0244	0,0190	0,0054
RbCl	0,0244	0,0190	0,0054
RbCl	0,0244	0,0190	0,0054
RbCl	0,0500	0,0427	0,0073
RbCl	0,0500	0,0425	0,0075
RbCl	0,0500	0,0425	0,0075
RbCl	0,0496	0,0430	0,0066
RbCl	0,0496	0,0434	0,0062
RbCl	0,0496	0,0434	0,0062
RbCl	0,0496	0,0430	0,0066
RbCl	0,0505	0,0444	0,0061
RbCl	0,0505	0,0444	0,0061
RbCl	0,0994	0,0914	0,0080
RbCl	0,0994	0,0910	0,0084
RbCl	0,0994	0,0910	0,0084
RbCl	0,1015	0,0910	0,0105
RbCl	0,1015	0,0910	0,0105
CsCl	0,0244	0,0194	0,0050
CsCl	0,0244	0,0194	0,0050
CsCl	0,0244	0,0194	0,0050
CsCl	0,0505	0,0445	0,0060
CsCl	0,0505	0,0450	0,0055
CsCl	0,0505	0,0450	0,0655
CsCl	0,0505	0,0445	0,0060
CsCl	0,0496	0,0434	0,0062
CsCl	0,0496	0,0434	0,0062
CsCl	0,0994	0,0915	0,0079
CsCl	0,0994	0,0915	0,0079
CsCl	0,0994	0,0915	0,0079
CsCl	0,0989	0,0899	0,0090
CsCl	0,0989	0,0899	0,0090

Die mittleren Werte der adsorbierten Mengen für die einzelnen Versuchsreihen sind in folgender Tabelle zusammengestellt:

	Normalität vor dem Versuch		
	0,025	0,05	0,1
	Adsorbierte Mengen (Mittelwerte)		
LiCl	0,0047	0,0063	0,0084
NaCl	0,0047	0,0072	0,0099
KCl	0,0049	0,0083	0,0100
RbCl	0,0054	0,0067	0,0091
CsCl	0,0050	0,0059	0,0083

Zeichnet man diese Werte in ein Koordinatensystem, in dem die Abszisse die Normalität der ursprünglichen Lösung an Chlor die Koordinate die adsorbierte Menge angibt, so erhält man folgendes Bild:

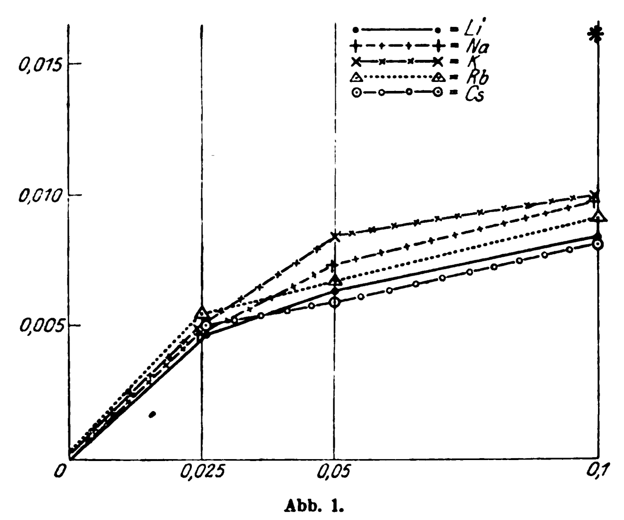


Abb. 1.

* Wert für $CaCl_2$ nach Michaelis und Rona.

Diese Ergebnisse sagen uns folgendes: Die Alkalichloride werden in ungefähr gleicher Weise adsorbiert. Die einzelnen Schwankungen müssen der Fehlerbreite der Methode zugerechnet werden, die auch Michaelis und Rona etwa ebenso groß annehmen, als es hier der Fall ist. So sagen diese Autoren, die bei 0,05 n für Natrium eine Adsorption von 0,0071 n und für Kalium eine von 0,0053, bei einer Normalität von 0,1, für Natrium eine

Adsorption von 0,0098, für Kalium eine solche von 0,0090 fanden: „Es ist wohl angebracht, die Wirkung von K, Na (und NH_4) gleichzusetzen". Einen wirklichen außerhalb der Fehlerbreite liegenden Unterschied darf man wohl erst bei größeren Zahlendifferenzen annehmen, wofür ich als Beispiel den von Michaelis und Rona gefundenen Adsorptionswert für $CaCl_2$ bei einer ursprünglichen Lösung von 0,0999 n anführe: Er beträgt 0,0161. (Dieser Wert ist auch in das beigefügte Koordinatensystem eingetragen.) Das wäre ein Unterschied gegen unseren Kaliumwert für diese Normalität von 0,0061, während der größte Unterschied hier zwischen Kalium und Caesium nur 0,0017 beträgt. Diese Schwankung findet sich auch bei den Ergebnissen beim Rubidium allein bei 0,1 Normalität. In ihr dürfte sich die Fehlerbreite der Methode ausdrücken. Beide Werte sind durch Kontrollbestimmungen sichergestellt.

Wir werden nach dem Gesagten also annehmen dürfen, daß die Adsorbierbarkeit der Alkalichloride an Tierkohle keine bei der verwendeten Versuchsmethode nachweisbaren Unterschiede zeigt. Die vorliegenden kleinen Schwankungen lassen sich nicht in eine Beziehung zum Atomgewicht bringen. Wollte man also die gesetzmäßig mit steigendem Atomgewicht zunehmende Wirkung der Alkalikationen auf rote Blutkörperchen durch Unterschiede der Adsorbierbarkeit erklären, so müßte man annehmen, daß diese nach anderen Gesetzen an die Oberfläche der Erythrocyten adsorbiert werden, als an Tierkohle. Nach der herrschenden Annahme wird die Adsorbierbarkeit durch den Sinn der Ladung der adsorbierenden Oberfläche bestimmt. Da sowohl Tierkohle als Blutkörperchen negative Ladung tragen, ist die Annahme eines prinzipiellen Unterschiedes der beiden Adsorbentien nicht wahrscheinlich. Daß die Empfindlichkeit der bei der vorliegenden Untersuchung verwandten Adsorptionsreaktion zu ger ng sei, ist abzulehnen. Denn das Calciumion, das auf den Kolloidzustand der roten Blutkörperchen einen Einfluß derselben Größenordnung, aber umgekehrten Sinnes besitzt, wie die untersuchten Alkaliionen, ergibt mit derselben Methode untersucht nach Rona und Michaelis eine deutlich von der der Alkalien verschiedene Adsorbierbarkeit. An dem Grade der Adsorbierbarkeit können demnach die beobachteten Wirkungsunterschiede auf rote Blutkörperchen nicht liegen.

Kehren wir so zu der aufgeworfenen Fragestellung zurück, so kann man nach diesen Feststellungen wohl folgern, daß die Ursache der verschiedenen Wirkung der Alkalisalze auf die roten Blutkörperchen, wie sie oben auseinandergesetzt war, nicht in abgestuft verschiedener Adsorbierbarkeit, sondern in einer spezifischen Wirkung der betreffenden Elemente zu suchen ist.

Zusammenfassung.

Alkalikationen beeinflussen nach H. Straub und Kl. Meier die Durchgängigkeit der Membranen der roten Blutkörperchen, und zwar vom Natrium ab unter sonst gleichen Bedingungen um so mehr, je größer das Atomgewicht des betreffenden Elementes ist. Zur Klärung der Frage, ob an eine spezifische Wirkung der betreffenden Elemente oder an verschiedene Adsorbierbarkeit derselben als Ursache dieser Erscheinungen zu denken ist, wurde die Adsorption der Alkalichloride an Tierkohle geprüft. Es ergab sich, daß die Adsorbierbarkeit der verschiedenen Alkalichloride an Tierkohle innerhalb der Fehlerbreite gleich ist. Die gestellte Frage ist also im Sinne einer spezifischen Wirkung der betreffenden Elemente zu beantworten.

Über die Lichtabsorption des reduzierten Hämoglobins.

Von

Paul Hári.

(Aus dem Physiologisch-Chemischen Institut der Universität Budapest.)

(Eingegangen am 21. Januar 1921.)

Mit 1 Abbildung im Text.

Nachdem in früheren Arbeiten die Lichtabsorption alkalischer[1]) und neutraler[2]) Lösungen von Oxyhämoglobin, ferner neutraler und alkalischer Lösungen von Methämoglobin[3]) längs des größten Teiles des sichtbaren Spektrums festgestellt wurde, erschien es als wünschenswert, diese Untersuchungen auch an Lösungen von reduziertem Hämoglobin auszuführen.

Gewisse Schwierigkeiten ergaben sich dabei durch den bekannten Umstand, daß bei der Reduktion, die mittels verschiedener Reagenzien vorgenommen werden kann, die Reduktion oft nicht den ganzen, in Lösung befindlichen Farbstoff betrifft, oft auch Farbstoffderivate anderer Art sich bilden können.

Hüfner[4]) bediente sich bei seinen diesbezüglichen Versuchen zweier Verfahren: Verdrängung des O_2 aus dem Oxyhämoglobin durch einen H_2-Strom oder Reduktion durch Fäulnisbakterien. Bezüglich der ersteren Methode kann ich gleich vorausschicken, daß diese Art der Reduktion bei der mir zur Verfügung stehenden Apparatur nicht zum vollen Erfolg führen konnte. Es gelang zwar, eine Lösung von Oxyhämoglobin, die in ein möglichst enghalsiges Gefäß eingefüllt war, durch einen raschen H_2-Strom in einer angemessenen Zeit vollkommen zu reduzieren, doch war es technisch unmöglich, die Flüssigkeit beim Einfüllen in die zylindrischen Röhren, die beim Gebrauch des neuen Königschen Apparates verwendet werden, vor dem O_2-Zutritt zu bewahren.

---

[1]) P. Hári, Beiträge zur Lichtabsorption des Oxyhämoglobins. Diese Zeitschr. 82, 229. 1917.

[2]) P. Hári, Über die Lichtabsorption neutraler Lösungen von Oxyhämoglobin. Diese Zeitschr. 95, 257. 1919.

[3]) P. Hári, Über die Lichtabsorption des Methämoglobins in neutraler und soda-alkalischer Lösung. Diese Zeitschr. 103, 271. 1920.

[4]) G. Hüfner, Neue Versuche zur Bestimmung der Sauerstoffkapazität des Blutfarbstoffes. Arch. f. Anat. u. Physiol. 1894, S. 138.

Weit besser kam ich mit faulendem Blute zum Ziele. Man hat es natürlich nicht immer in der Hand, den durch Bakterien vermittelten Reduktionsprozeß so zu beherrschen, wie etwa einen, der durch ein wohldefiniertes chemisches Agens vermittelt wird; immerhin erhält man aber auf obige Weise oft reduzierte Lösungen, die sich, wie bekannt, jahrelang halten können.

Von anderen Mitteln versuchte ich noch das ebenfalls von Hüfner verwendete Hydrazinhydrat, ohne jedoch vollkommene Reduktion zu erhalten.

Ferner versuchte ich auch das Stokessche Reagens, das sich jedoch für meine Zwecke als unbrauchbar erwiesen hat, und zwar aus folgendem Grunde. Das in der Kontrollröhre befindliche Lösungsmittel (Wasser) muß, da das Reagens, mittels dessen die Blutprobe in der anderen Röhre reduziert werden soll, eine starke Eigenfarbe besitzt, mit demselben Quantum des Reagens versetzt werden. Die so entstandene Färbung bleibt in der Kontrollröhre unverändert, während in der anderen Röhre, wo bei der Reduktion des Blutfarbstoffes infolge der Wechselwirkung zwischen dem Blutfarbstoff und dem Eisensalz eben eine Oxydation des Eisensalzes erfolgt, dies mit einer Farbenveränderung des letzteren einhergeht. Dann wird aber ein Unterschied in der Lichtabsorption der Blutlösung und des Lösungsmittels in der Kontrollröhre schon aus diesem Grunde allein, also unabhängig von der Lichtabsorption durch den Blutfarbstoff entstehen. Von diesem Stande der Dinge habe ich mich in einer ganzen Reihe, aus diesem Grunde mißlungener Versuche überzeugen können.

Tadellosen Erfolg hatte ich von dem Natriumhydrosulfit[1]), $Na_2S_2O_4$, das ich auf Anraten des vormaligen Assistenten am hiesigen III. chemischen Institute, Herrn Dr. Rex, versucht hatte, und das mir vom Vorstande des genannten Institutes, Herrn Professor Buchböck, in liebenswürdigster Weise zur Verfügung gestellt wurde.

In nachfolgendem soll also bloß über Versuche berichtet werden, die an faulendem Blute einerseits und an Hämoglobinlösungen andererseits ausgeführt wurden, die ich mittels $Na_2S_2O_4$ reduziert hatte.

---

[1]) Die Anwendung dieses Präparates zur Reduktion des Blutfarbstoffes durch A. Bapst (Gaz. méd. de Paris 22. 1877) ist erwähnt bei B. v. Reinbold im Abderhaldenschen Bioch. Handlexikon 6, 199. 1911.

Vorausgeschickt sei, daß alle Bestimmungen mittels des nach Martens und Grünbaum verbesserten neuen Königschen Spektrophotometers ausgeführt wurden, dessen Justierung ich wiederholt geprüft und dessen Orientierungsskala ich neuerdings kontrolliert hatte. Als Lichtquelle diente eine Metallfadenlampe von großer Lichtintensität. Der Objektivspalt hatte eine Breite von 0,1 mm; nur bei den Ablesungen in Blau mußte der Spalt 0,2 bis 0,3 mm breit genommen werden. Der Okularspalt, der an dem Apparate mangels einer Meßtrommel nicht meßbar verstellbar ist, mußte schlechterdings ein für alle Male so breit genommen werden, wie von Hüfner an beiden von ihm in seinen neueren Arbeiten geprüften Spektralstellen. Auf diese Weise ergab sich in Grün und Grüngelb ein ca. 8—9 $\mu\mu$ breiter Spektralausschnitt, am Ende von Rot ein solcher von ca. 18, am Ende von Blau ein solcher von ca. 5 $\mu\mu$.

A. Versuche an faulendem Blute.

Am 20. IV. 1919 wurde defibriniertes Pferdeblut (Nr. 66) in einem offenen Gefäß in den 30° C warmen Thermostaten gestellt, dort bis zur beginnenden Fäulnis stehen gelassen, sodann ein Glaskolben mit der Flüssigkeit bis einige Zentimeter unter dem Stopfen angefüllt und nun bei Zimmertemperatur abermals stehengelassen. Sehr bald trat die gewünschte Reduktion ein, sichtbar an der rotblauen Färbung der dünnen Schicht, die am Kolbenhals langsam herunterfloß, nachdem ich den Kolben für einen Augenblick gestürzt und gleich wieder emporgerichtet hatte. Auch das Spektrum dieser dünnen Schicht wies keine Spur mehr der beiden Oxyhämoglobinstreifen auf, sondern bloß das breite Absorptionsband des reduzierten Hämoglobins.

Nun goß ich ein wenig von diesem Blute zu gut ausgekochtem und wieder abgekühltem destilliertem Wasser und füllte damit, ohne Zusatz von kohlensaurem Natrium, eine der Röhren, die am neuen Königschen Apparate die früher gebräuchlichen Tröge ersetzen. Obzwar dies alles sehr rasch geschah, waren die beiden Streifen des Oxyhämoglobins sofort wieder erschienen, es hat also eine Reoxydation stattgefunden. Als ich aber die anfangs sehr trübe Flüssigkeit, die zur spektrophotometrischen Prüfung noch völlig ungeeignet war, eine Woche lang in der verschlossenen Röhre stehenließ, wurde sie infolge eingetretener Sedimentierung klar, auch waren die beiden Streifen des Oxyhämoglobins wieder ver-

schwunden und war nur mehr das eine Band des reduzierten Hämoglobins sichtbar. Die Blutlösung hatte offenbar noch lebende und vermehrungsfähige Fäulnisbakterien in hinreichender Zahl enthalten, die das neugebildete Oxyhämoglobin wieder in den reduzierten Zustand zu überführen imstande waren. Nun ließ ich die Röhre noch weiterhin einige Tage lang so liegen, wie dies ihrer natürlichen Lage in der Rinne des Apparates entsprach; während dieser Zeit hatte sich die wolkige, offenbar hauptsächlich aus Bakterien bestehende Trübung zu einem schlammigen, allerdings leicht emporwirbelbaren Bodensatz zusammengeballt, während die darüberstehende blaurote Flüssigkeit vollkommen klar und zur spektrophotometrischen Prüfung geeignet war.

Wiederholt war es auch geschehen, daß der Schlamm nicht nur die tiefsten, für die spektrophotometrische Prüfung indifferenten Lagen der Flüssigkeit einnahm, sondern sich auch in Form eines feinsten Niederschlages auf die Innenflächen der gläsernen Verschlußplatten niederschlug. In solchen Fällen war natürlich nichts zu machen, die Röhre mußte wieder frisch gefüllt werden.

Die Herstellung solcher verdünnter, bloß reduziertes Hämoglobin enthaltender Lösungen aus dem genannten Blut Nr. 66 gelang mir noch einige Male mit vollem Erfolge, später aber nie wieder, indem die unmittelbar nach dem Anfüllen der Röhre hervortretenden beiden Streifen des frisch gebildeten Oxyhämoglobins nicht mehr oder nicht mehr vollständig verschwanden, offenbar weil die reduzierenden Bakterien inzwischen bereits abgestorben waren. Als ich späterhin, genau wie dies am Blute Nr. 66 geschah, ein weiteres Pferdeblut Nr. 71 zur Fäulnis aufstellte, gelang mir die Herstellung verwendbarer Lösungen wieder genau so glatt wie früher.

Einige Vorsicht erheischten allerdings diese Untersuchungen insofern, als 1. beim Wechseln der Röhren (Farbstofflösung einmal rechts, einmal links) der schlammige Bodensatz sehr leicht emporgewirbelt werden konnte, demzufolge dann an eine Fortsetzung der Ablesungen vor Ablauf vieler Stunden nicht zu denken war; 2. konnte ich von vorneherein nie dessen ganz sicher sein, daß das beim Füllen der Röhre entstandene Oxyhämoglobin auch wirklich in seiner Gänze wieder reduziert sei. Ich führte also die Ablesungen zunächst bloß an den zwei auch von Hüfner benutzten Spektralstellen aus und wiederholte dann diese Ablesungen an den nächsten Tagen solange, bis die Werte als konstant oder

annähernd konstant sich erwiesen hatten. In der Tat zeigte sich auf diese Weise, daß die Lösung am ersten Tage noch ein wenig Oxyhämoglobin enthalten haben mußte, das dann allmählich schwand. Hierauf deutete der anfangs noch etwas höhere Wert von $\frac{E_{541,4-533,7}}{E_{565,6-556,1}}$, der dann einem niedrigeren stabilen Wert Platz machte. Für diesen Vorgang seien in Tabelle I einige Beispiele angeführt.

Tabelle I.

Blut Nr.	Datum	Extinktions-Koeffizient (E)		$\frac{E\ 541,4-533,7}{E\ 565,6-556,1}$
		541,4 – 533,7 $\mu\mu$	565,6 – 556,1 $\mu\mu$	
66. Lösung a	6. V.	0,693	0,837	0,828
	7. V.	0,661	—	—
	8. V.	0,612	0,783	0,781
	10. V.	0,609	0,763	0,798
66. Lösung III	12. VI.	0,818*)	1,005*)	0,811
	13. VI.	0,846	1,038	0,815
	14. VI.	0,823	1,017	0,810
	15. VI.	0,819	1,011	0,811
71. Lösung 2	7. VI. vorm.	0,600	0,733	0,818
	7. VI. nachm.	0,578	0,719	0,804
	8. VI.	0,566	0,708	0,799
	9. VI.	0,567	0,717	0,791

*) Diese beiden Ablesungen waren offenbar fehlerhaft.

1. **Bestimmung der spezifischen Extinktionskoeffizienten.** An den Lösungen, die auf die oben beschriebene Weise aus faulendem Blute hergestellt wurden, habe ich die Lichtabsorption längs einer möglichst langen Strecke des sichtbaren Spektrums festgestellt, wobei ich aber bemerken muß, daß die Ablesungen in Blau etwas unsicher waren. Die Extinktionskoeffizienten, die ich erhalten haben, reduzierte ich, um die Ergebnisse vergleichen zu können, auf die einheitliche Konzentration von 0,1% Farbstoffgehalt, genau so, wie dies in meinen früheren Mitteilungen geschah. (In meiner Mitteilung I habe ich erwähnt[1]), daß ich die so reduzierten Werte als spezifische Extinktionskoeffizienten bezeichnen will und dabei übersehen, daß im Ostwald-Lutherschen Handbuch dieser Ausdruck für denselben Fall bereits vorgeschlagen ist. Dies als nachträgliche Rektifikation!) Zu dieser Berechnung war es notwendig, den Farbstoffgehalt der von mir untersuchten Lösungen zu kennen, was aber seine Schwierigkeiten

[1]) l. c. S. 242.

hatte. Denn außer einer colorimetrischen Eisenbestimmung (die ich zu jener Zeit, da ich noch nicht im Besitze des vorzüglichen kleinen Autenriethschen Colorimeters war, nicht ausführen konnte) kam nur die Rückverwandlung in Oxyhämoglobin in Betracht. Diese erfolgte so, daß ich die Blutlösung mit kohlensaurem Natrium bis zu einem Gehalt von 0,1% versetzte, dann energisch mit Luft durchschüttelte, die Extinktionskoeffizienten der so erhaltenen Lösung von Oxyhämoglobin an beiden obenerwähnten Spektralstellen, wo die Werte des Absorptionsverhältnisses sicher festgestellt sind, bestimmte, und aus beiden Werte die Konzentration auf Grund der Formel $c = \varepsilon \cdot A$ berechnete, wobei für das Absorptionsverhältnis die von mir in meiner I. Mitteilung angegebenen Werte 0,001884 resp. 0,001168 eingestellt wurden.

Eine gewisse Unsicherheit ergab sich hierbei daraus, daß die so ermittelten Konzentrationen nicht genau denselben Wert hatten, je nachdem ich diese im Spektralausschnitt 541,4—533,7 $\mu\mu$ (d. i. am zweiten, in Grün gelegenen Streifen des Oxyhämoglobins) oder aber bei 565,6—556,1 $\mu\mu$ (d. i. im Zwischenraum zwischen den beiden Streifen) ermittelt habe. Aber auf Grund dessen, was über die weit größere Konstanz der Lichtabsorption des Oxyhämoglobins an der zweiterwähnten Stelle, also im Zwischenraum zwischen beiden Streifen, seit längerer Zeit bekannt ist resp. von mir in meiner Mitteilung ausführlich beschrieben wurde, habe ich mich berechtigt gefühlt, den an dieser Stelle erhobenen resp. berechneten Wert der Konzentration als den richtigeren anzusehen.

Die Werte der spezifischen Extinktionskoeffizienten sind, an vier Lösungen von faulendem Blute bestimmt, in den vier links gelegenen Stäben der Tabelle II enthalten, der nächste Stab enthält die Mittelwerte aus diesen vier Versuchsreihen.

2. Berechnung des Absorptionsverhältnisses (Vierordt). An den bereits mehrfach erwähnten zwei wichtigsten Stellen des Spektrums habe ich auch die Absorptionsverhältnisse sowie auch deren Quotienten berechnet und folgende Werte erhalten:

Blut	$A_{565,6-556,1}$	$A_{541,4-533,7}$	$\frac{A_{565,6-556,1}}{A_{541,4-533,7}}$
66/a	0,001374	0,001758	0,781
66/b	0,001334	0,001646	0,811
71/2	0,001395	0,001764	0,791
Mittelwert	0,001368	0,001723	0,794

Die von Hüfner seinerzeit an faulendem Blute nahezu an denselben Spektralstellen erhobenen Werte, die ich aus seinen Daten berechnet habe, waren 0,001350 resp. 0,001778, also um 1,3% höher resp. um 3% niedriger. Der Quotient der Hüfnerschen Werte beträgt 0,759.

Durch Reduktion mit einem H-Strom erhielt Hüfner die Werte 0,001366 resp. 0,001783, also ebensoviel resp. um 3,5% mehr, als ich. Der Quotient betrug in diesen Versuchen 0,766.

B. Versuche an Hämoglobinlösungen, die mittels $Na_2S_2O_4$ reduziert wurden.

Aus gewaschenen Blutkörperchen vom Pferde wurde krystallisiertes Hämoglobin nach der bekannten Vorschrift hergestellt und von demselben mittels einer 1 proz. Lösung von Na_2CO_3 so viel gelöst, daß eine zur spektrophotometrischen Prüfung geeignete, nicht zu helle und nicht zu dunkle Flüssigkeit entstehe. An dieser wurden zunächst die Extinktionskoeffizienten an den zwei oben bereits mehrfach erwähnten Spektralstellen bestimmt. Sofort nach Beendigung dieser Ablesungen wurde die Röhre geöffnet, mit einigen Körnchen des $Na_2S_2O_4$ versetzt, die Röhre verschlossen und wiederholt energisch umgeschwenkt und geschüttelt. Dies war aus dem Grunde notwendig, weil sich das Salz zwar sofort löste und die eintretende Reduktion an der bläulichen Verfärbung der Umgebung sofort sichtbar wurde, doch war eine gleichmäßige Vermischung der allseits verschlossenen Flüssigkeitssäule, die selbstredend keine Luftblasen enthalten durfte, nicht anders rasch zu bewerkstelligen.

Wurde, wie dies namentlich in meinen allerersten diesbezüglichen Versuchen vorkam, zu wenig des Salzes genommen, so dauerte es mitunter auch 24 Stunden, bis die Reduktion eine vollkommene ward; hatte ich hinreichend von dem Salze genommen, war dies in allerkürzester Zeit der Fall.

1. Bestimmung der spezifischen Extinktionskoeffizienten. An den oben beschriebenen Lösungen des reduzierten Hämoglobins wurden die Ablesungen in möglichst kleinen Intervallen längs des sichtbaren Spektrums ausgeführt und die so erhaltenen Extinktionskoeffizienten auf die einheitliche Konzentration von 0,1% Farbstoffgehalt umgerechnet. Dies konnte auf die einfachste Weise geschehen, weil ja die Konzentration der

Lösung zur Zeit, als sie bloß reines Oxyhämoglobin enthielt, aus den Extinktionskoeffizienten an den bereits mehrfach erwähnten Stellen des Spektrums berechnet werden konnte.

Die an reduzierten Lösungen von Pferdehämoglobin so erhal-

Tabelle II.

Spektral-Ausschnitt $\mu\mu$—$\mu\mu$	Durch Fäulnis reduziertes					Durch $Na_2S_2O_4$ reduziertes				
	Pferdeblut Nr. 66, Lösung a, Hämoglobingehalt = 0,108%	Pferdeblut Nr. 66, Lösung b*)	Pferdeblut Nr. 66, Lösung III, Hämoglobingehalt = 1,35%	Pferdeblut Nr. 71, Lösung 2, Hämoglobingehalt = 1,48%	Mittelwerte	Pferdehämoglobin Nr. 72, Lösung 1 b, Konzentr. = 0,544%	Pferdehämoglobin Nr. 72, Lösung 2, Konzentr. = 0,0300%	Pferdehämoglobin Nr 79, Lösung 1, Konzentr = 0,0748%	Pferdehämoglobin Nr. 79, Lösung 2, Konzentr. = 0,289%	Mittelwerte
678,1—660,5	—	—	—	—	—	0,0476	—	—	—	0,0476
665,6—649,1	—	—	—	—	—	0,0542	—	—	—	0,0542
653,9—638,5	—	—	—	—	—	0,0596	—	—	—	0,0596
642,7—628,5	0,0974	0,126	—	—	0,111	0,0690	—	—	—	0,0690
632,5—618,5	0,113	0,138	—	—	0,125	—	—	—	—	—
622,7—609,2	0,131	0,162	—	—	**0,146**	0,0960	—	0,168	0,127	**0,130**
613,2—600,7	0,152	0,183	0,162	0,133	0,158	—	—	—	—	—
604,4—592,4	0,240	0,273	—	—	**0,256**	0,210	—	0,274	0,250	**0,245**
595,9—584,7	0,366	0,383	0,376	0,351	**0,369**	0,363	0,381	0,374	0,378	**0,374**
588,2—577,5	0,472	0,491	—	—	**0,481**	0,476	—	0,479	0,494	**0,483**
580,3—570,5	0,556	0,581	0,585	0,552	**0,569**	0,567	0,570	—	—	**0,568**
573,5—563,5	0,648	0,660	—	—	**0,654**	0,664	—	0,655	0,677	**0,665**
570,0—559,6	—	—	—	—	—	—	—	0,705	0,731	0,718
568,1—558,4	—	—	—	—	—	—	—	0,719	0,744	0,731
566,5—557,0	0,712	0,714	0,741	0,706	**0,718**	0,744	0,741	0,732	0,757	**0,744**
565,6—556,1	0,728	0,717	0,749	0,717	**0,728**	0,747	0,755	0,742	0,767	**0,753**
563,0—553,9	—	—	—	—	—	—	—	0,758	0,786	0,769
559,6—551,0	0,737	0,731	—	—	**0,734**	—	—	0,760	0,791	**0,775**
556,7—547,8	—	—	—	—	—	—	—	0,753	0,790	0,771
553,5—544,7	0,717	0,723	0,757	0,719	**0,729**	0,752	0,754	0,731	0,772	**0,752**
547,3—539,0	0,654	0,672	—	—	**0,663**	0,691	—	0,668	0,699	**0,686**
541,7—533,7	0,569	—	0,607	0,567	**0,581**	0,579	0,594	0,589	0,604	**0,591**
535,9—528,4	0,500	0,530	—	—	**0,515**	0,501	—	0,516	0,527	**0,515**
530,7—523,3	0,485	0,485	0,470	0,446	**0,467**	0,437	0,459	0,464	0,468	**0,457**
520,0—513,6	0,413	0,405	—	—	**0,409**	—	—	0,398	0,389	**0,392**
511,1—504,6	—	—	—	—	—	—	—	0,342	0,321	0,331
502,3—496,4	—	—	—	—	—	—	—	0,298	0,285	0,291
494,0—488,3	—	—	—	—	—	—	—	0,276	0,252	0,264
486,3—481,1	—	—	—	—	—	—	—	0,271	0,238	0,253
479,1—474,2	—	—	—	—	—	—	—	0,278	0,233	0,255
472,3—467,6	—	—	—	—	—	—	—	0,270	0,245	0,257

*) Der Hämoglobingehalt dieser Lösung war nicht bekannt. Ich nahm daher von den Extinktionskoeffizienten, die im besonders markanten Spektralausschnitt 541,4—533,7 $\mu\mu$ an den übrigen Lösungen erhalten wurden, den Mittelwert; und berechnete das Verhältnis zwischen diesem Mittelwert und dem an Blut 66 Lösung b an dieser Stelle tatsächlich erhaltenen Extinktionskoeffizienten. In diesem Verhältnis wurden dann alle in diesem Stabe der Tabelle erhaltenen Extinktionskoeffizienten umgerechnet.

tenen spezifischen Extinktionskoeffizienten sind in den viert- bis vorletzten Stäben der Tabelle II enthalten, die Mittelwerte aus den vier Versuchsreihen in dem letzten Stabe.

An den meisten Spektralstellen wurden Ablesungen sowohl am faulenden Blut als auch an Hämoglobin, das mittels $Na_2S_2O_4$ reduziert wurde, ausgeführt. Die Mittelwerte aus diesen Ablesungen sind in den betreffenden Stäben fett gedruckt, im Gegensatz zu solchen, die bald nur in der einen, bald nur in der anderen Gruppe vorkommen.

Die Mittelwerte aus den Versuchen, in denen die Reduktion mittels $Na_2S_2O_4$ erfolgte — welche Werte ich aus den weiter unten

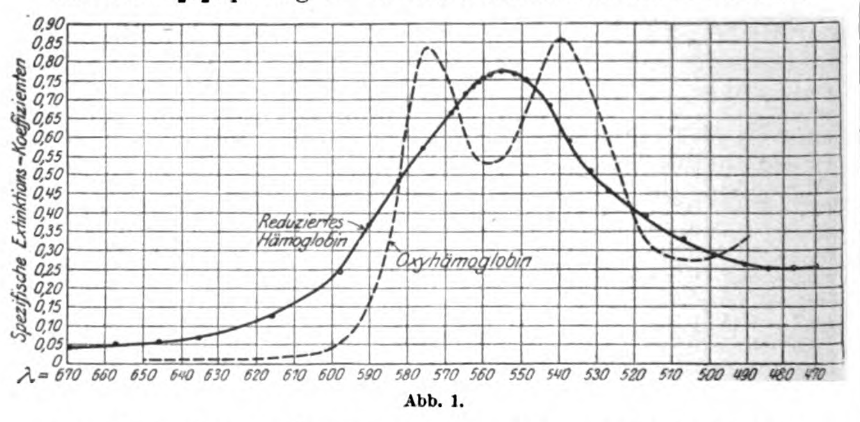


Abb. 1.

dargelegten Gründen für die richtigeren halte — sind außerdem noch in ein Koordinatensystem als Ordinaten eingetragen, während die Wellenlängen als Abszissen figurieren (siehe die Abbildung). In dieselbe Abbildung ist des besseren Vergleiches halber auch die in derselben Weise konstruierte Kurve des Oxyhämoglobins eingezeichnet.

2. Berechnung des Absorptionsverhältnisses (Vierordt). Bezüglich der beiden Spektralstellen, an denen auch Hüfner seine Beobachtungen angestellt hatte, habe ich so, wie dies in den Versuchen an faulendem Blute geschah, das Absorptionsverhältnis berechnet und dabei folgende Werte erhalten:

Hämoglobin	$A_{565,6-556,1}$	$A_{541,4-533,7}$	$\frac{A_{565,6-556,1}}{A_{541,4-533,7}}$
72,1/b	0,001339	0,001727	0,775
73,2	0,001324	0,001685	0,786
79,1	0,001349	0,001697	0,794
79,2	0,001304	0,001657	0,787
Mittelwerte	**0,001329**	**0,001691**	**0,785**

Es ergibt sich nun die Frage, ob die an faulendem Blute oder an dem durch $Na_2S_2O_4$ reduzierten Hämoglobin erhaltenen Werte als die richtigen anzusehen seien.

Die von Hüfner einerseits an faulendem, andererseits an durch H_2 reduziertem Blute erhaltenen Werte stimmen, wie aus nachstehender Zusammenstellung ersichtlich, vorzüglich überein. Ferner stehen meine an faulendem Blute erhobenen Werte den beiderartigen Hüfnerschen Werten näher als die, die ich an mittels $Na_2S_2O_4$ reduziertem Hämoglobin erhielt.

H_2-Strom (Hüfner)	0,001366	0,001783	0,766
Fäulnis (Hüfner)	0,001350	0,001778	0,759
Fäulnis (Hári)	0,001368	0,001723	0,794
$Na_2S_2O_4$ (Hári)	0,001329	0,001691	0,785

Trotzdem glaube ich, daß von meinen Werten denjenigen mehr Vertrauen zu schenken sei, die in den Versuchen mit $Na_2S_2O_4$ erhalten wurden, und zwar aus folgenden Gründen:

a) Diese Versuche wurden an Lösungen von reinem Hämoglobin ausgeführt, die übrigen, auch die von Hüfner, jedoch an Blut.

b) Grobsichtbare Trübungen als Fehlerquellen sind zwar auch am faulenden Blute sicher zu vermeiden gewesen, doch ist es nicht auszuschließen, daß minimalste, dem freien Auge nicht mehr sichtbare, durch die Anwesenheit von Bakterien bedingte Trübungen vorkommen und immerhin einen Fehler von einigen Prozenten verursacht haben mögen.

c) Den Fäulnisbakterien kommt zwar ein sehr energisches Reduktionsvermögen zu, doch ist nicht auszuschließen, daß sich neben dem reduzierten Hämoglobin auch andere Farbstoffderivate (Sulfhämoglobin) bilden

d) Durch die bessere Übereinstimmung meiner an faulendem Blute erhaltenen Werte mit den Hüfnerschen können jene schon aus dem Grunde nicht als ganz sichergestellt angesehen werden, weil ja die Hüfnerschen Versuche zwar mit einer bewunderungswürdigen Exaktheit, immerhin jedoch mit einem Apparate ausgeführt wurden, der von dem neuen Königschen Apparate, mittels dessen meine Versuche ausgeführt wurden, bei weitem übertroffen wird.

C. Die Stelle des Maximums der Absorption.

Das Maximum der Lichtabsorption findet sich in den vier Versuchsreihen, in denen die Ablesungen in hinreichend dichten Intervallen erfolgt waren, in dem Spektralausschnitt 559,6—551,0. Diese Stelle wird als die der maximalen Lichtabsorption bereits durch die Ablesungen an Blut 66a und 66b sehr wahrscheinlich gemacht, indem die Absorption in den rot und blauwärts benachbarten Ausschnitten eine geringere war:

	66/a	66/b
565,6—556,1	0,728	0,717
559,6—551,0	0,737	0,731
553,5—544,7	0,717	0,723

Noch wahrscheinlicher, ja nach Maßgabe der technischen Möglichkeit sichergestellt wird jene Stelle, als die der maximalen Absorption, durch die beiden anderen Versuchsreihen, in denen die Ablesungsintervalle noch dichter waren:

	79/1	79/2
563,0—553,9	0,758	0,786
559,6—551,0	0,760	0,791
556,7—547,8	0,753	0,790

Als Stelle des Maximums ergab sich also die Mitte des Spektralausschnittes 559,6—551,0, d. i. **555,3** $\mu\mu$.

Hiermit stimmt vorzüglich überein die von Formanek[1]) angegebene Stelle 555 $\mu\mu$, weniger gut die von Lewin, Miethe und Stenger[2]) angegebenen Stellen: für Hämoglobin 558 und für Blut 559 $\mu\mu$.

Zusammenfassung.

1. Die Lichtabsorption des reduzierten Hämoglobins wurde längs eines großen Teiles des sichtbaren Spektrums bestimmt.

2. An den zwei seit Hüfners Untersuchungen wichtigen Spektralstellen wurde das Absorptionsverhältnis berechnet und bei 565,6—556,1 $\mu\mu$ 0,001329 gefunden, bei 541,4—533,7 $\mu\mu$ 0,001691. Der Quotient dieser Werte beträgt 0,785.

3. Das Maximum der Lichtabsorption wurde bei 555,3 $\mu\mu$ gefunden.

---

[1]) Zeitschr. f. analyt. Chemie **40**, 505. 1901.

[2]) Arch. f. d. ges. Physiol. **118**, 92. 1907.

Über das Vorkommen und die Verteilung von Fetten und Lipoiden im Blute nach Blutentziehung.

Chemische Beiträge zur Kenntnis des Lipämiegebietes. VII.

Von

Joh. Feigl.

(Aus dem Chemisch-physiologischen Laboratorium des Allgemeinen Kranhauses Hamburg-Barmbeck.)

(Eingegangen am 5. Januar 1921.)

Das Auftreten lipämischer Umstimmungen nach Blutentziehung ist einige Male in der Literatur beschrieben und zur Diskussion gestellt worden. Im Anschlusse an weiterausgreifende Untersuchungen über die Pathologie des Lipämiekomplexes hat Verf. seit einigen Jahren Gelegenheit gehabt, sich mit klinischen Fällen zu befassen, die der Frage dienstbar gemacht werden können, Für die Inangriffnahme und Mitteilung einschlägiger Beobachtungen sprechen der Zusammenhang mit den bisherigen Sonderstudien des Verf., die seither eingeführten und hochbedeutsamen neuen Methoden, endlich mancherlei klinische und diagnostische Beziehungen. Von der Erscheinung der Blutungslipämie aus werden manche pathologischen Angaben zu beleuchten sein.

Das methodische System von W. R. Bloor, ergänzt durch F. A. Caonka und erläutert durch Verf., hat letzterer in früheren Mitteilungen zur Darstellung gebracht. Verf. bezieht sich in diesem Zusammenhange auf seine systematischen Mitteilungen, desgleichen weist er hin auf die a. a. O. herangezogene Literatur der hier vorliegenden Sonderfrage. Führend sind die Arbeiten von Boggs und Morris bzw. von Sakai geblieben.

Versuche wurden angestellt an operativen Fällen, die mit höherem Blutverlust einhergingen (A). Ferner konnte eine Reihe von Beobachtungen bei stark blutendem Magenulcus gemacht werden (B). Des weiteren hatten wir Gelegenheit, einzelne

Tabelle 1.

Lipämie nach Blutentziehung.

Klinisch-pathologische Beobachtungen. Analytisches System von W. R. Bloor. Wiedergabe in gekürzter Form: Relative Formulierungen. Hauptfraktionen — direkt bestimmt oder formuliert — in mg für 100,0 ccm Plasma.

Fälle und Termine	Aussehen	% a) Gesamt-Fettsäure	% b) Lecithin	% c) Gesamt-Cholesterin	% a:b	% b:c
		Operat. Blutverluste				
1. Schwerste Operation, großer Blutverlust nach 24 Stunden	leicht trübe	2,10	0,40	0,32	5,2	1,25
♂ . . . . „ 48 „	lipämisch	4,25	0,42	0,48	10,0	0,87
(Unfall) . . „ 72 „	lipämisch	2,20	0,31	0,42	7,10	0,74
„ 1 Woche	leicht trübe	0,50	0,25	0,33	2,0	0,75
2. Schwere Operation, großer Blutverlust nach 48 Stunden	lipämisch	4,25	1,02	0,92	4,17	1,11
♂ . . . . „ 72 „	lipämisch	6,66	1,22	1,24	5,9	0,90
(Unfall) . . „ 1 Woche	leicht trübe	2,01	0,42	0,62	4,8	0,70
„ 2 Wochen	o. B.	0,43	0,26	0,31	1,9	1,26
3. Schwerste Operation, großer Blutverlust nach 48 Stunden	leicht lipäm.	1,92	0,29	0,29	6,6	1,00
♂ . . . . „ 72 „	leicht lipäm.	2,11	0,30	0,31	7,0	1,02
(Unfall) . . „ 96 „	leicht lipäm.	1,66	0,21	0,35	8,0	0,60
„ 2 Wochen	o. B.	0,35	0,17	0,21	1,86	1,75
		Ulcusblutungen				
1. Starke Blutung seit Tagen ♂	trübe	4,02	0,50	0,49	8,0	1,0
2. „ „ „ „ ♂	lipämisch	2,22	0,41	0,42	5,4	1,02
3. „ „ „ „ ♂	trübe	1,95	0,32	0,32	6,0	1,00
Nach 1 Woche	o. B.	0,35	0,15	0,15	2,33	1,00
		Menstruelle Blutungen				
1. Starker Blutverlust an 3 Tg.						
Entnommen an Tagen 1.	trübe	0,82	0,41	0,50	0,5	0,80
2.	leicht lipäm.	1,75	0,62	0,49	2,8	1,26
3.	lipämisch	2,25	0,58	0,58	3,9	1,0
10.	leicht trübe	0,66	0,31	0,38	2,1	0,8
2. Starker Blutverlust an 2 Tg.						
Entnommen nach Tagen 2.	lipämisch	2,25	0,52	0,52	4,3	0,97
3.	lipämisch	4,52	0,72	0,66	6,3	1,91
8.	o. B.	0,47	0,22	0,26	2,7	0,95
3. Starker Blutverlust in 2 Tg.						
Entnommen nach Std. 24.	leicht lipäm.	0,66	0,28	0,28	2,4	1,97
48.	lipämisch	2,82	0,72	0,66	4,0	1,06
72.	leicht trübe	0,82	0,32	0,28	2,6	1,14
2 Tage vorher	o. B.	0,38	0,22	0,22	1,68	0,98

Tabelle I (Fortsetzung).

Fälle und Termine	Aussehen	a) Gesamt-Fettsäure %	b) Lecithin %	c) Gesamt-Cholesterin %	a:b %	b:c %
		Hämoptöe b. Tbc. pulm.				
1. Schwerste Blutung						
Entnahme nach 24 Stunden	leicht trübe	1,02	0,31	0,22	0,93	1,41
„ „ 48 „	lipämisch	2,02	0,51	0,41	4,0	1,25
2. Schwerste Blutung ebenso	leicht lipäm.	0,6	0,42	0,42	1,43	1,0
3. Schwerste Blutung ebenso						
Entnahme nach 48 Stunden	leicht lipäm.	0,93	0,31	0,31	3,0	1,99
„ „ 1 Woche	o. B.	0,31	0,24	0,20	1,30	1,20
4. Schwerste Blutung						
Entnahme nach 48 Stunden	stark trübe	1,05	0,25	0,25	4,0	1,98
„ „ 1 Woche	leicht lipäm.	0,46	0,14	0,17	3,3	0,82
5. Schwerste Blutung						
Entnahme nach 36 Stunden	leicht lipäm.	2,20	0,33	0,27	6,6	1,22
„ „ 48 „	lipämisch	2,33	0,42	0,29	5,5	1,45
„ „ 1 Woche	stark trübe	0,52	0,20	0,24	2,60	0,83
„ „ 2 „	trübe	0,42	0,12	0,15	3,50	0,80

Personen mit starken bzw. stärksten menstruellen Blutungen zu untersuchen (C). Fälle mit Hämoptoe bei Tbc. pulm. wurden herangezogen (D). Auch nach Aderlässen (aus klinischen bzw. diagnostischen Anlässen) wurden Prüfungen angestellt (E). Später kam eine Reihe von Tierversuchen hinzu (F). Innerhalb des gesamten Versuchsmaterials wurde Wert gelegt auf weitgehende Variation des Alters, des Kräftezustandes, der Ernährungslage, des allgemeinen klinischen Status wie der pathochemischen Konstanten.

Die tabellarische Wiedergabe erfolgt, verglichen mit den früheren einschlägigen Untersuchungen des Verf., gekürzt. Innerhalb der Fraktion der „Gesamtfettsäuren" kommt das Neutralfett übersichtlich genug zum Ausdrucke.

Über die Fälle der Tabelle I ist im einzelnen folgendes zu sagen:

Die operativen Fälle standen unter Lokalanästhesie. Nr. 1 war eine Beinamputation, Nr. 2 eine Hernie, Nr. 3 eine Beinamputation. Nr. 1, 2 waren außerordentlich kräftige, sehr gut ernährte Männer, Nr. 3 befand sich in kümmerlichem Ernährungs-

zustande. Wesentliche Komplikationen lagen nicht vor. Die Blutverluste wurden genähert zu rund 1 l, rund $^1/_4$ l, rund 1,2 l geschätzt. Alle Befunde gehen aus der Tabelle hervor. Es treten typisch lipämische Erscheinungen auf, die innerhalb der ersten 24 Stunden „leicht" begannen, sich zu ausgesprochenen erhoben und nach rund 1 Woche unter Veranschaulichung leichter Trübungen wichen.

Sowohl die Relationen (a : b; b : c) zeigen die Verschiebungen in den Fraktionen an, wie die absoluten Zahlen. Lecithin und Cholesterin bleiben im Ansteigen weiter hinter den Gesamtfettsäuren zurück. Neutralfett macht danach den entscheiden Zuwachs aus. Cholesterin ist im Ablaufe der Erscheinungen träger beweglich. Fall Nr. 3 bleibt in der Mobilisation des Neutralfettes relativ zurück (s. Relationen).

Soweit also der bedingende Gesamtkomplex aller Faktoren eine Auswertung zuläßt, darf damit gerechnet werden, daß Steigerungen der Gesamtfettsäure (d. i. indirekt des Neutralfettes) auf das Zehnfache und auf selbst mehr vorkommen. Erscheinungen der geschilderten Art können einsetzen nach 24 Stunden bzw. innerhalb der ersten 48 Stunden nach eingetretenem Blutverluste und sich über 1 Woche hinaus erstrecken. Der Ernährungszustand bzw. der Bestand an Depotfett modifizieren Art und Dauer der Erscheinungen.

Blutungen beim Ulcus betreffen überwiegend bereits erschütterte Organismen. Die vorhandenen Zahlen zeigen mäßige bzw. leichtere lipämische Erscheinungen. Lecithin und Cholesterin zeigen geringere Anstiege.

Über lipämische Umstimmungen im Blute bei schwereren Menstruationen ist nach den vorliegenden Fällen zu sagen, daß auch sie belanglich sein können. Allgemein genommen, hat es den Anschein, als ob relativ mehr Lecithin und Cholesterin in Bewegung geraten, als bei einfachen Blutentziehungen. Auch hier spielen die vorbedingenden Faktoren des Körperzustandes eine beträchtliche Rolle. Im Falle Nr. 1 war bei ganz erheblichen, ja vielleicht bedrohlichen Blutungen der im Neutralfett ausgeprägte Grad weniger erheblich als in dem zweifellos günstigeren Verlaufe des Falles Nr. 2. Letzterer betraf ein vollkräftiges, gut genährtes Individuum, was im ersteren nicht dermaßen der Fall war. Auch Fall Nr. 3, der übrigens nicht so schwere Blutverluste

zeigte, war von weniger gutem Ernährungszustande. Die Dauer der Erscheinungen erstreckt sich über gut 1 Woche. Zwischen dem Grade sichtbarer lipämischer Erscheinungen und dem Ergebnis chemischer Prüfungen besteht auch hier keine strenge Parallelität.

Auch bei tuberkulöser Hämoptoë kommen Steigerungen des lipämischen Bildes vor. Die Abschattierungen sind hier erheblich und die erreichten Beträge sind nicht annähernd so hoch, wie sie zu erwarten wären.

Nach Aderlässen bei Nephritis u. a. beobachtet man Umstimmungen des lipämischen Komplexes. Auf einmalige Entnahme von 200,0—500,0 ccm Blut findet man innerhalb einer mehrtägigen Frist prinzipiell die Erscheinungen der Blutungslipämie wieder. Oft findet man jedoch, wenn Cholesterin schon gesteigert vorhanden war, nur Zuflüsse an Neutralfett. Selbst bei schweren Zuständen — experimentelle Entnahme bei Leberatrophie — kann man durch Fettmobilisation lipämische Bilder vortäuschen, die an sich nicht vorhanden gewesen wären.

Das vorliegende Material erhebt nicht den Anspruch, statistisch oder klinisch beschreibend die Beziehungen zu schildern, welche zur Blutungslipämie führen. Es handelte sich darum, eine Reihe von Fällen auszuwählen, die genau genug definiert waren, um das Auftreten und das chemische Bild des Einzelvorkommens zu veranschaulichen. Unter Berücksichtigung der alimentären Faktoren wird später eine eindringlichere Schilderung zu geben sein.

Es unterliegt keinem Zweifel, daß einmalige Blutentziehungen von 200,0 ccm bereits Umlagerungen des Lipämiekomplexes im Gefolge haben können. Wesentlich für alle einschlägigen Untersuchungen muß es daher sein, diese Sonderverhältnisse in einiger Breite zu kennen. Dem vorbereitenden klinischen Materiale seien einzelne tierexperimentelle Befunde zur Seite gestellt. Die sichtbaren Erscheinungen der lipämischen Umstimmungen haben mit ihrem chemischen Charakter im übrigen in weitaus größter Ausdehnung des Gesamtvorkommens nichts zu tun. Maskierungen kommen cet. par. in Betracht. Das Plasma ist der Träger der fraglichen Umlagerungen.

Die Tierversuche in Tabelle II geben folgende Befunde:

Tabelle II.

Lipämie nach Blutentziehung.

Tierversuche A. Kaninchen. B. Meerschweinchen.
Stallfütterung mit Rüben und Kraut mit Zuschüssen; mäßig fetthaltig.
mg berechneter Substanz bzw. gefundener Werte für 100,0 ccm Plasma nach W. R. Bloor (gekürzte Aufstellung).

	Gesamt-Fettsäure %	Lecithin %	Cholesterin frei Ester %	Gesamt-Fettsäure: Lecithin %	Lecithin: Cholesterin %	Bemerkungen
1. Vor Beginn klar	0,29	0,11	0,05	2,66	2,21	1,82 kg Körp.-Vol. 36
Entnahme 50,0 ccm						
nach 2 d. lipämisch	2,90	0,45	0,31	6,44	1,51	Hb. 23. Körp.-Vol. 21
nach 4 d. lipämisch	2,19	0,49	0,21	4,38	2,27	Hb. 28. Körp.-Vol. 25
nach 1 Woche fast klar	0,32	0,135	0,06	2,3	2,32	Hb. 35. Körp.-Vol. 37
2. Vor Beginn klar	0,22	0,11	0,07	2,1	1,45	2,2 kg. Körp.-Vol. 41
Entnahme 60,0 ccm						
nach 2 d. } je 10 ccm lipämisch	3,10	0,43	0,21	7,3	2,0	Hb. 36 Körp.-Vol. 22
nach 4 d. } je 10 ccm lipämisch	2,3	0,33	0,26	7,0	1,3	Hb. 30. Körp.-Vol. 23
nach 6 d. } je 10 ccm lipämisch	1,3	0,23	0,12	5,4	2,00	Hb. 38. Körp.-Vol. 30
nach 8 d. trübe	0,75	0,2	0,10	3,9	1,8	— —
nach 10 d. klar	0,26	0,11	0,06	2,82	1,50	Hb. 61. Körp.-Vol. 38
3. Meerschweinchen klar	0,23	0,08	0,04	2,9	2,0	
Entnahme 10,0 ccm						
nach 2 d. lipämisch	2,2	0,31	0,30	7,1	1,0	
nach 3 d. lipämisch	2,4	0,3	0,3	8,0	1,0	
nach 6 d. fast klar	0,3	0,1	0,1	3,0	1,0	

Bei zureichender, sowohl fetthaltiger wie fettbildender Fütterung treten lipämische Bilder auf. Der Grad der Sichtbarkeit mit seinen Erscheinungen (Aufrahmung, Milchschokoladefärbung usw.) geht nicht proportional zum chemischen Fettzuwachs. Sowohl einmalige Entziehung wie eine solche, ergänzt durch Einzelentnahmen, führt zu lipämischen Bildern. Sie sind, soweit aus den analytischen Entnahmetrümmern geschlossen werden darf, ausgeprägt erst etwa nach 24—48 Stunden. Sie dauern mehrere Tage. Kleine Blutentziehungen, die an sich lipämische Umstimmungen kaum geben, halten die Erscheinungen lange hin.

An Hand der wenigen „normalen" Untersuchungen am Kaninchenplasma lassen sich folgende Größenstufen dartun. Es können steigen:

Gesamtfettsäuren auf das Zehnfache und Fünfzehnfache.

Lecithin parallel auf das Vierfache bis Fünffache.

Gesamtcholesterin auf das Vierfache bis Sechsfache.

Damit erheben sich die Bloorschen Relationen entsprechend.

Am wirksamsten steigt eigentliches Fett (vgl. Gesamtfettsäuren). Lecithin und Cholesterin folgen träger. Letzteres scheint beim Abbau der Lipämie relativ zähe festgehalten zu werden.

Nach obigem treten also lebhafte lipämische Erscheinungen bei gut genährten Kaninchen auf. Auf diese wird man bei tierexperimentellen Zwecken, die irgendwie mit Blutanalysen einhergehen, aufmerksam sein müssen. Selbst je 10,0 ccm pro Tag, Tieren von rund 1,5 kg und mehr, einmal oder gar ein paarmal entzogen, verschieben den plasmatischen Aufbau der Fette und Lipoide, mithin indirekt das chemische Gesamtbild.

Bei Fertigstellung der Arbeit hatte Verf. Gelegenheit, Einsicht in die außerordentlich schöne und systematisch abgerundete Arbeit von Horiuchi über das gleiche Thema zu nehmen. Verf.s eigene Versuche wurden dabei sofort abgebrochen. Sie zeigen jedoch gute Übereinstimmung mit den genannten und sind — als Erläuterung zu den klinischen Beobachtungen — notwendig gewesen.

In vorliegender Mitteilung wird an Hand der Bloorschen, von Verf. (F.) schon früher ergiebig benutzten Methoden Material zur Frage der Blutungsanämie vorgelegt. An klinischen Fällen läßt sich der Verlauf, die Intensität, das Wesen der chemischen Verhältnisse im großen dartun. An erster Stelle steht das Neutralfett. Lecithin und Cholesterin beteiligen sich ebenfalls. Schematisiert ergibt sich etwa folgendes Bild. Wenn „Gesamtfettsäure“ aufs Zehnfache steigt, so erheben sich die Lipoide aufs Zwei- bis Vier- (Drei-) fache. Bei den Menstruationsblutungen scheinen hinsichtlich der Lipoide u. U. besondere Verhältnisse vorzuliegen. Weitgehend entscheiden Art, Intensität, Regelmäßigkeit der Ernährung sowie der allgemeine Körperzustand.

In Hinsicht auf die pathochemische und diagnostische Praxis wird man sich der Vorkenntnisse über die Blutungslipämie bedienen müssen, da bei Reihenuntersuchungen zweifellos die Möglichkeit offensteht, Treffer innerhalb dieser artifiziellen — dem eigenen Krankheitsbilde u. U. fremden — Perioden zu erzielen.

Der lipämische Komplex des Kaninchens wird an Hand einiger Zahlen beschrieben, die mit der ausgezeichneten Studie von Horiuchi übereinstimmen.

Literatur.

Diese Zeitschr. **85**, 380ff. 1918; ebenda 88, 53—85. 1918; ebenda **90**, 1—39. 1918; ebenda **90**, 173. 1918; ebenda **93**, 257—289. 1918. — Ferner ebenda **86**, 5. 1918 das. und z. T. auch in vorstehenden Stellen, vollständige Lit. Normalwerte des Verfs., siehe die Originalien von W. R. Bloor s. in den zit. Mitt. — Ferner Zeitschr. f. d. ges. exp. Med. **11**, 178—239. 1920. — Diese Zeitschr. **112**, 27. 1920. — C. Horiuchi, Journ. Biol. Chem. 1920. — Ber. ges. Physiol. 1921. — Das. neueste Lit.

Notiz zur Kenntnis der Senkungsgeschwindigkeit von roten Blutkörperchen.

Von

Paul György.

(Aus dem biochemischen Laboratorium des städt. Krankenhauses am Urban, Berlin.)

(Eingegangen am 8. Januar 1921.)

In einer früheren Arbeit gelang es Rona und György[1]), den Nachweis zu erbringen, daß außer der bekannten Wirkung der Elektrolyte auch Nichtelektrolyte einen bedeutenden Einfluß auf die Stabilität von Suspensionen ausüben. Es lag nun nahe, diese Verhältnisse auch an Blutkörperchensuspensionen zu untersuchen, zumal das Studium der Senkungsgeschwindigkeit der Blutkörperchen seit den Arbeiten von Fåhraeus[2]) und von Plaut[3]) ein großes praktisches Interesse gewonnen hat. Fåhraeus gebührt das Verdienst, als erster gefunden zu haben, daß die Senkungsgeschwindigkeit der Blutkörperchen bei Menschen unter normalen Verhältnissen eine konstante Größe darstellt, daß sie bei Frauen größer ist, als bei Männern, und daß sie während der Schwangerschaft bedeutend zunimmt. Ähnliche Befunde konnte auch Plaut erheben, der auch bei Krankheiten wie Paralyse, Lues, Arteriosklerose eine erhöhte Senkungsgeschwindigkeit beobachtete. Die erhöhte Senkungsgeschwindigkeit konnte nur im Plasma nachgewiesen werden, im Serum kam sie nicht mehr zum Vorschein. — Während Fåhraeus im Höberschen Institut die Erklärung für die Änderung der Senkungsgeschwindigkeit in elektrischen Ladungsverhältnissen

[1]) P. Rona und P. György, Untersuchungen über Sedimentierungen. Diese Zeitschr. 105, 133. 1920. Vgl. auch L. Michaelis und P. Rona. diese Zeitschr. 97, 57. 1919.

[2]) Fåhraeus, diese Zeitschr. 86, 298. 1918.

[3]) F. Plaut, Untersuchungen über die Senkungsgeschwindigkeit der Blutkörperchen usw. Münch. med. Wochenschr. 1920, S. 279.

der Blutkörperchen suchte, ohne aber einen bindenden Beweis erbracht zu haben, sucht Plaut durch Erscheinungen der Autoagglutination eine Lösung der Frage zu bringen.

Berczeller und Stanker[1]) suchten die Änderung der Senkungsgeschwindigkeit von Blutkörperchenemulsionen durch Zusatz von verschiedenen Stoffen zu beeinflussen, und hierdurch ließen sich die Bedingungen der Stabilität von Blutkörperchensuspensionen besser durchschauen. Die Versuche wurden auf Veranlassung von Prof. Rona ausgeführt[2]).

Experimenteller Teil.

Zur Anwendung kamen gewaschene Blutkörperchen vom Rind und vom Menschen. Das geschlagene Blut wurde scharf abzentrifugiert, das Serum abgehoben und die Blutkörperchen mit physiologischer Kochsalzlösung serumfrei gewaschen. Dann werden 5 proz. Aufschwemmungen in Lösungen von verschiedenen Stoffen hergestellt. Die Lösungen von diesen Stoffen kamen auch in verschiedener Konzentration zur Anwendung. Die Aufschwemmungen wurden in gleich weite ca. 8 mm breite Reagensgläser bis zu gleicher Höhe gefüllt, gut gemischt und senkrecht stehengelassen. Die Entfernung der sich senkenden Blutkörperchensäule von der Oberfläche wurde nach gewissen Zeitintervallen notiert und stellte ein Maß der Senkungsgeschwindigkeit dar. In einigen Versuchsreihen wendeten wir auch schmalere, ca. 5 mm breite Röhrchen an, doch zogen wir die breiteren diesen vor, da wir in breiteren eine bessere Konstanz und Gleichmäßigkeit beobachten konnten. Um die Versuche nicht zu unübersichtlich zu gestalten, dehnten wir die Beobachtungsdauer bloß in wenigen Versuchsreihen über 2—24 Stunden hinaus aus.

Auf Rinderblutkörperchenaufschwemmungen konnte eine Wirkung weder von den Nichtelektrolyten noch von den Elektrolyten sicher nachgewiesen werden. Die Blutkörperchen verhielten sich in bezug auf die Senkungsgeschwindigkeit den verschiedenen

---

[1]) A. Berczeller und E. Stanker, Physikochemische Untersuchungen über die roten Blutkörperchen. Internat. Zeitschr. f. physik.-chemische Biologie III, S. 133. 1917.

[2]) Die Arbeit wurde Anfang 1920 fertiggestellt, doch die Veröffentlichung durch äußere Gründe gehindert. Spätere Arbeiten, so insbesondere die zusammenfassende Arbeit von Linzenmeier und Höber, konnten nicht berücksichtigt werden.

Reagenzien gegenüber refraktär. Bloß in der Tabelle I können wir von einer Versuchsreihe berichten, in welcher Äthylalkohol in starker Konzentration, ebenso Cholesterin und Lecithin in Alkohol gelöst, die Senkungsgeschwindigkeit der Rinderblutkörperchen mäßig, aber sicher verringern. Das überwiegend refraktäre Verhalten der Rinderblutkörperchen in den verschiedenen Suspensionsflüssigkeiten könnte vielleicht mit dem ebenfalls refraktären Verhalten derselben betreffs der Ricinagglutination[1]) parallel gesetzt werden, wie auch die Rinderblutkörperchen serologisch sonst auch in vieler Beziehung eine Sonderstellung einnehmen. Auf Grund

[1]) Rona und György, Über die Einwirkung von Elektrolyten auf die Ricin-Hämagglutination. Diese Zeitschr. **105**, 120. 1920.

Tabelle I.

Nr.	Konzentration	50 proz. Blutkörp.-Aufschw. ccm	Sedimentierung nach 1 Std.	2 Std.	24 Std.	Konzentration	50 proz. Blutkörp.-Aufschw. ccm	n/7-$CaCl_2$-Lösung ccm	Sedimentierung nach 1 Std.	2 Std.	24 Std.
1	Lecithin {alk. / ges. 1/10	1	Hämolyse			Lecithin {alk. / ges. 1/10	1	1	3	6	Hämolyse
2	" ges. 1/20	1	Hämolyse			" ges. 1/20	1	1	4	5	50
3	" ges. 1/40	1	5	7	46	" ges. 1/40	1	1	4	6	50
4	" ges. 1/80	1	5	7	49	" ges. 1/80	1	1	5	7	52
5	" ges. 1/160	1	5	7	50	" ges. 1/160	1	1	5	7	51
6	Cholest. {alk. / ges. 1/10	1	4	6	41	Cholest. {alk. / ges. 1/10	1	1	4	6	44
7	" ges. 1/20	1	4	7	47	" ges. 1/20	1	1	5	7	43
8	" ges. 1/40	1	5	7	48	" ges. 1/40	1	1	5	8	54
9	" ges. 1/80	1	5	7	54	" ges. 1/80	1	1	5	8	54
10	" ges. 1/160	1	5	8	56	" ges. 1/160	1	1	5	8	56
11	" —	1	5	8	57	" —	1	1	5	8	57

Tabelle Ia.

Nr.	Konzentration	50 proz. Bl tkörp.-Aufschw. ccm	Sedimentierung nach 1 Std.	2 Std.	24 Std.
1	Äthylalk. 1/10	1	5*)	7*)	45*)
2	" 1/20	1	5	7	47
3	" 1/40	1	5	8	53
4	" 1/80	1	5	8	52
5	" 1/160	1	5	8	57
6	—	1	5	8	56

*) Spur von Hämolyse.

dieser Überlegung setzten wir unsere Versuche über die Sedimentierung der Blutkörperchen mit Menschenblutkörperchen als Versuchsobjekt fort.

Wie aus Tabelle II ersichtlich, blieben Nichtelektrolyte wie Thymol, Campher, Tributyrin, Äthyläther, Chloroform und

Tabelle II.

Nr.	Konzentration	50proz. Blutkörp.-Aufschw. ccm	Sedimentierung nach 1 Std.	Sedimentierung nach 2 Std.	Konzentration	50proz. Blutkörp.-Aufschw. ccm	Sedimentierung nach 1 Std.	Sedimentierung nach 2 Std.
1	Thymol ges. 1/2	1	7	11	Äthyläther ges. 1/2	1	Hämolyse	
2	" ges. 1/5	1	7	11	" ges. 1/5	1	7	Hämol.
3	" ges. 1/10	1	7	11	" ges. 1/10	1	7	11
4	" ges. 1/20	1	6	11	" ges. 1/20	1	7	11
5	Campher ges. 1/2	1	7	10	Chloroform ges. 1/2	1	7	11
6	" ges. 1/5	1	7	10	" ges. 1/5	1	7	11
7	" ges. 1/10	1	7	10	" ges. 1/10	1	7	11
8	" ges. 1/20	1	7	11	" ges. 1/20	1	7	11
9	Tributyrin ges. 1/2	1	6	10	Aceton 1/10	1	7	11
10	" ges. 1/5	1	6	10	" 1/20	1	7	11
11	" ges. 1/10	1	6	10	" 1/40	1	7	11
12	" ges. 1/20	1	6	10	" 1/80	1	7	11
13	—	1	7	11	—	1	7	11

Tabelle III.

Nr.	Konzentration	50proz. Blutkörp.-Aufschw. ccm	Sedimentierung nach 1 Std.	Sedimentierung nach 3 Std.	Konzentration	50proz. Blutkörp.-Aufschw. ccm	Sedimentierung nach 1 Std.	Sedimentierung nach 2 Std.
1	Methylalkohol m/2	1	6	15	Heptylalk. ges. 1/2	1	6	14
2	" m/5	1	6	15	" ges. 1/5	1	6	15
3	" m/10	1	6	15	" ges. 1/10	1	6	15
4	" m/20	1	7	16	" ges. 1/20	1	6	15
5	Äthylalkohol m/2	1	6	14	Normal-Octylalk. ges. 1/2	1	6	15
6	" m/5	1	6	15	" ges. 1/5	1	6	15
7	" m/10	1	6	15	" ges. 1/10	1	6	15
8	" m/20	1	7	16	" ges. 1/20	1	6	15
9	Propylalkohol m/2	1	5	13	Sek.-Octylalk. ges. 1/2	1	6	15
10	" m/5	1	6	15	" ges. 1/5	1	6	16
11	" m/10	1	6	15	" ges. 1/10	1	6	17
12	" m/20	1	6	16	" ges. 1/20	1	6	17
13	Amylalk. ges. 1/2	1	5	Hämol.	Decylalk. ges. 1/2	1	6	16
14	" ges. 1/5	1	6	15	" ges. 1/5	1	6	16
15	" ges. 1/10	1	6	15	" ges. 1/10	1	6	16
16	" ges. 1/20	1	6	16	" ges. 1/20	1	6	16
17	—	1	6	16	—	1	6	16

Aceton, in physiologischer Kochsalzlösung gelöst, ohne Einfluß auf die Senkungsgeschwindigkeit. Die Tatsache, daß Menschenblutkörperchen sich rascher senken als Rinderblutkörperchen, worauf auch schon Berczeller und Stanker hingewiesen haben, konnten wir nicht bloß in dieser, sondern in sämtlichen Versuchsreihen mit Menschenblutkörperchen beobachten.

In Versuchen mit der homologen Alkoholreihe (Tabelle III) konnte eine konstante, wenn auch geringe Abschwächung der Senkungsgeschwindigkeit in den stärksten angewendeten Konzentrationen von Äthyl-, Propyl- und auch Heptylalkohol beobachtet werden. Bei den höheren Alkoholen hindern die ungünstigen Löslichkeitsverhältnisse die Entfaltung von ähnlicher Wirkung, während Amylalkohol in der hohen Konzentration die Blutkörperchen auflöst. Mit weiter steigender Konzentration verringert sich auch die Senkungsgeschwindigkeit weiter (Tabelle IV).

Tabelle IV.

Nr.	Konzentration	50 proz. Blutkörp.-Aufschw. ccm	Sedimentierung nach		
			1 Std.	2 Std.	24 Std.
1	Äthylalk. 1/10	1	6*)	8*)	68*)
2	" 1/20	1	6	9	68
3	" 1/40	1	7	10	komplett
4	" 1/80	1	7	11	"
5	" 1/160	1	7	11	"
6	—	1	7	11	"

*) Spur von Hämolyse.

In Tabelle V und VI stellten wir Versuchsreihen zusammen, in denen die Blutkörperchen in alkoholischen Lecithin- und Cholesterinsuspensionen aufgeschwemmt wurden. Aus Lecithin (Merck) und aus Cholesterin (Merck) wurde eine gesättigte alkoholische Lösung hergestellt; die Konzentration der Lecithinlösung betrug auf Grund der Analyse 0,544% g Lecithin und die der Cholesterinlösung 0,1% g. Die Verdünnung der alkoholischen Lösungen erfolgte durch physiologische Kochsalzlösung, das Cholesterin und Lecithin ging so entweder in kolloidale Lösung oder aber fiel bei höherer Konzentration teilweise aus der Lösung aus. —

Wie aus den Tabellen ersichtlich, wird durch Cholesterin- und Lecithinaufschwemmungen die Senkungsgeschwindigkeit

Tabelle V.

Nr.	Konzentration	50proz. Blutkörp.-Aufschw. ccm	Sedimentierung nach 1 Std.	2 Std.	24 Std.	Konzentration	50proz. Blutkörp.-Aufschw. ccm	$^{n}/_{7}$-$CaCl_2$-Lösung ccm	Sedimentierung nach 1 Std.	2 Std.	24 Std.	Konzentration	50proz. Blutkörp.-Aufschw. ccm	$^{n}/_{7}$-$CaCl_2$-Lösung ccm	Serum ccm	Sedimentierung nach 1 Std.	2 Std.	24 Std.
1	Lecithin ges. 1/10	1	Hämolyse			Lecithin ges. 1/10	1	1	Hämolyse			Lecithin ges. 1/10	1	1	1	4	7	49
2	„ ges. 1/20	1	Hämolyse			„ ges. 1/20	1	1	5	7	60	„ ges. 1/20	1	1	1	5	8	57
3	„ ges. 1/40	1	6	9	67	„ ges. 1/40	1	1	5	8	61	„ ges. 1/40	1	1	1	5	8	62
4	„ ges. 1/80	1	6	9	67	„ ges. 1/80	1	1	5	9	70	„ ges. 1/80	1	1	1	6	10	kpl.
5	„ ges. 1/160	1	6	9	69	„ ges. 1/160	1	1	6	9	71	„ ges. 1/160	1	1	1	6	10	kpl.
6	Cholest. ges. 1/10	1	4	7	57	Cholest. ges. 1/10	1	1	4	7	57	Cholest. ges. 1/10	1	1	1	4	7	54
7	„ ges. 1/20	1	5	8	60	„ ges. 1/20	1	1	5	8	64	„ ges. 1/20	1	1	1	5	8	62
8	„ ges. 1/40	1	5	9	67	„ ges. 1/40	1	1	7	11	komplett	„ ges. 1/40	1	1	1	6	9	komplett
9	„ ges. 1/80	1	6	10	komplett	„ ges. 1/80	1	1	7	11	komplett	„ ges. 1/80	1	1	1	6	11	komplett
10	„ ges. 1/160	1	6	10	komplett	„ ges. 1/160	1	1	7	11	komplett	„ ges. 1/160	1	1	1	6	11	komplett
11	—	1	7	11	komplett	—	1	1	7	11	komplett	—	1	1	1	7	11	komplett

bedeutend beeinflußt, in erster Linie in höheren Konzentrationen. Da aber das verwendete Lösungsmittel des Lecithins und des Cholesterins, der Äthylalkohol (s. Tabelle IV), schon allein die Senkungsgeschwindigkeit schwächt, könnte der Einfluß des Lecithins und Cholesterins nur in alkoholfreien Suspensionen genau verfolgt werden. Zu diesem Zwecke stellten wir uns eine in Aceton gesättigte Lösung von Cholesterin und eine in Äther gesättigte Lösung von Lecithin her. Die ätherige Lösung des Lecithins wurde 1:10 mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt und der Äther mittels Durchleitung von Luft entfernt. Wie aus Tabelle VII ersichtlich, ist der Einfluß von Cholesterin in einer Acetonaufschwemmung tatsächlich äußerst unbedeutend, während die Lecithinaufschwemmung auch in schwächeren Konzentrationen sich

Tabelle VI.

Nr.	Konzentration	50 proz. Blutkörp.-Aufschw. ccm	Sedimentierung nach 1 Std.	Sedimentierung nach 2 Std.	Konzentration	50 proz. Blutkörp.-Aufschw. ccm	$^{n}/_{7}$-$CaCl_2$-Lösung ccm	Sedimentierung nach 1 Std.	Sedimentierung nach 2 Std.
1	Lecithin {alk. / ges. $^1/_{10}$	1	Hämol.		Lecithin {alk. / ges. $^1/_{10}$	1	1	3*)	7*)
2	" ges. $^1/_{20}$	1	Hämol.		" ges. $^1/_{20}$	1	1	4	7
3	" ges. $^1/_{40}$	1	5	7	" ges. $^1/_{40}$	1	1	5	8
4	" ges. $^1/_{80}$	1	5	8	" ges. $^1/_{80}$	1	1	5	8
5	" ges. $^1/_{160}$	1	5	9	" ges. $^1/_{160}$	1	1	6	10
6	Cholest. {alk. / ges. $^1/_{10}$	1	4	6	Cholest. {alk. / ges. $^1/_{10}$	1	1	4	7
7	" ges. $^1/_{20}$	1	4	7	" ges. $^1/_{20}$	1	1	6	9
8	" ges. $^1/_{40}$	1	5	8	" ges. $^1/_{40}$	1	1	6	10
9	" ges. $^1/_{80}$	1	6	9	" ges. $^1/_{80}$	1	1	6	11
10	" ges. $^1/_{160}$	1	6	10	" ges. $^1/_{160}$	1	1	6	11
11	—	1	6	10	—	1	1	6	11

*) Spur von Hämolyse.

noch ausgesprochen wirksam erwiesen. Die Wirkung des Cholesterins in einer alkoholischen Aufschwemmung ist also in erster Linie auf den Alkohol zurückzuführen, während bei einer alkoholischen Lecithinsuspension die Wirkung des Alkohols und des Lecithins sich gegenseitig verstärken müssen.

Schon in der Tabelle I, dann in den Tabellen V und VI haben wir Versuchsreihen aufgenommen, in denen wir die Wirkung des Lecithins und Cholesterins auf Grund der Überlegungen von

Tabelle VII.

Nr.	Konzentration	50 proz. Blutkörp.-Aufschw. ccm	Sedimentierung nach 1 Std.	Sedimentierung nach 2 Std.	Konzentration	50 proz. Blutkörp.-Aufschw. ccm	Sedimentierung nach 1 Std.	Sedimentierung nach 2 Std.
1	Cholest. in Aceton ges. $^1/_{10}$	1	5	9	Lecithin $^1/_{10}$	1	Hämolyse	
2	" " " $^1/_{20}$	1	5	9	" $^1/_{20}$	1	Hämolyse	
3	" " " $^1/_{40}$	1	5	10	" $^1/_{40}$	1	5	8
4	" " " $^1/_{80}$	1	5	10	" $^1/_{80}$	1	5	8
5	" " " $^1/_{160}$	1	6	10	" $^1/_{160}$	1	5	9
6	" " " $^1/_{320}$	1	6	10	" $^1/_{320}$	1	6	10
7	" " " $^1/_{640}$	1	6	10	" $^1/_{640}$	1	6	10
8	—	1	6	10	—	1	6	10
9	Aceton $^1/_{10}$	1	6	10	Aceton $^1/_{80}$	1	6	10
10	" $^1/_{20}$	1	6	10	" $^1/_{160}$	1	6	10
11	" $^1/_{40}$	1	6	10	" $^1/_{320}$	1	6	10

Tabelle VIII.

Nr.	Konzentration	50 proz. Blutkörp.-Aufschw. ccm	Sedimentierung nach 1 Std.	Sedimentierung nach 2 Std.	Konzentration	50 proz. Blutkörp.-Aufschw. ccm	Sedimentierung nach 1 Std.	Sedimentierung nach 2 Std.	Konzentration	50 proz. Blutkörp.-Aufschw. ccm	Sedimentierung nach 1 Std.	Sedimentierung nach 2 Std.	Konzentration	50 proz. Blutkörp.-Aufschw. ccm	Sedimentierung nach 1 Std.	Sedimentierung nach 2 Std.
1	Glykokoll m/10	1	6	10	Glycylalanin m/20	1	6	10	Amidoisovaleriansäure m/20	1	6	10	Tryptophan ges. 1/2	1	6	10
2	„ m/50	1	6	10	„ m/50	1	6	10	„ m/50	1	6	10	„ ges. 1/5	1	6	10
3	„ m/100	1	6	10	„ m/100	1	6	10	„ m/100	1	6	10	„ ges. 1/10	1	6	10
4	„ m/200	1	6	10	„ m/200	1	6	10	„ m/200	1	6	10	„ ges. 1/20	1	6	10
5	„ m/400	1	6	10	„ m/400	1	6	10	„ m/400	1	6	10	„ ges. 1/40	1	6	10
6	Leucin ges. 1/2	1	6	10	Leucyl-Glycylalanin ges. 1/2	1	6	10	Tyrosin ges. 1/2	1	6	10	Phenylalanin ges. 1/2	1	6	10
7	„ ges. 1/5	1	6	10	„ ges. 1/5	1	6	10	„ ges. 1/5	1	6	10	„ ges. 1/5	1	6	10
8	„ ges. 1/10	1	6	10	„ ges. 1/10	1	6	10	„ ges. 1/10	1	6	10	„ ges. 1/10	1	6	10
9	„ ges. 1/20	1	6	10	„ ges. 1/20	1	6	10	„ ges. 1/20	1	6	10	„ ges. 1/20	1	6	10
10	„ ges. 1/40	1	6	10	„ ges. 1/40	1	6	10	„ ges. 1/40	1	6	10	„ ges. 1/40	1	6	10
11	—	1	6	10	—	1	6	10	—	1	6	10	—	1	6	10

Tabelle IX.

Nr.	Konzentration	50 proz. Blutkörp.-Aufschw. ccm	Sedimentierung nach 1 Std.	Sedimentierung nach 2 Std.	Konzentration	50 proz. Blutkörp.-Aufschw. ccm	Sedimentierung nach 1 Std.	Sedimentierung nach 2 Std.
1	Methylurethan $^m/_2$	1	5	10	Butylurethan $^m/_{20}$	1	6	11
2	" $^m/_5$	1	7	11	" $^m/_{50}$	1	6	12
3	" $^m/_{10}$	1	7	11	" $^m/_{100}$	1	7	12
4	" $^m/_{20}$	1	7	11	" $^m/_{200}$	1	7	12
5	Äthylurethan $^m/_2$	1	6	10	Phenylurethan ges. $^1/_2$	1	7	11
6	" $^m/_5$	1	6	11	" ges. $^1/_5$	1	7	11
7	" $^m/_{10}$	1	7	11	" ges. $^1/_{10}$	1	7	12
8	" $^m/_{30}$	1	7	11	" ges. $^1/_{20}$	1	7	12
9	Propylurethan $^m/_8$	1	6	11	Diphenylharnstoff ges. $^1/_2$	1	7	11
10	" $^m/_{20}$	1	6	11	" ges. $^1/_5$	1	7	11
11	" $^m/_{40}$	1	7	12	" ges. $^1/_{10}$	1	7	11
12	" $^m/_{80}$	1	7	12	" ges. $^1/_{20}$	1	7	11
13	—	1	7	12	—	1	7	11

Tabelle X.

Nr.	Konzentration	50 proz. Blutkörp.-Aufschw. ccm	$^n/_7$ $CaCl_2$-Lösung ccm	Sedimentierung nach 1 Std.	Sedimentierung nach 2 Std.	Konzentration	50 proz. Blutkörp.-Aufschw. ccm	$^n/_7$ $CaCl_2$-Lösung ccm	Sedimentierung nach 1 Std.	Sedimentierung nach 2 Std.
1	Methylurethan $^m/_2$	1	1	5	11	Butylurethan $^m/_{20}$	1	1	6	11
2	" $^m/_5$	1	1	5	12	" $^m/_{50}$	1	1	5	11
3	" $^m/_{10}$	1	1	6	12	" $^m/_{100}$	1	1	6	11
4	" $^m/_{20}$	1	1	6	12	" $^m/_{200}$	1	1	6	11
5	Äthylurethan $^m/_2$	1	1	6	11	Phenylurethan ges. $^1/_2$	1	1	6	11
6	" $^m/_5$	1	1	6	11	" ges. $^1/_5$	1	1	6	11
7	" $^m/_{10}$	1	1	6	12	" ges. $^1/_{10}$	1	1	6	12
8	" $^m/_{20}$	1	1	6	12	" ges. $^1/_{20}$	1	1	6	11
9	Propylurethan $^m/_8$	1	1	6	11	Diphenylharnstoff ges. $^1/_2$	1	1	7	11
10	" $^m/_{20}$	1	1	6	11	" ges. $^1/_5$	1	1	7	11
11	" $^m/_{40}$	1	1	6	11	" ges. $^1/_{10}$	1	1	6	11
12	" $^m/_{80}$	1	1	7	11	" ges. $^1/_{20}$	1	1	7	11
13	—	1	1	6	11	—	1	1	6	11

Freundlich und Rona[1]) durch Zusatz von geringen Mengen von $Ca^{..}$ verstärken wollten. Die Versuche ergaben ein negatives Resultat, ebenso nach weiterem Zusatz von Serum.

[1]) H. Freundlich und P. Rona, Über die Sensibilisierung der Ausflockung von Suspensionskolloiden durch capillaraktive Nichtelektrolyte. Diese Zeitschr. **81**, 89. 1917; vgl. auch P. Rona und P. György l. c.

Als Nichtelektrolyte kamen weiter noch Aminosäuren, Peptide zur Verwendung; eine Beeinflussung der Senkungsgeschwindigkeit konnte durch dieselben nicht beobachtet werden, ebenso wie nach Zusatz von Ca-Ion (Tabelle VIII).

Auch bei den Urethanen und Diphenylharnstoff ergab die Untersuchung ein negatives Resultat, vielleicht bei der stärksten Konzentration von Methyl- und Äthylurethan tritt eine geringe Verminderung der Senkungsgeschwindigkeit hervor (Tabelle IX). Bei Zusatz von Ca vermischt sich auch dieser kleine Unterschied

Tabelle XI.

Nr.	Konzentration Millimol/Liter	50 proz. Blutkörp.-Aufschw. ccm	Sedimentierung nach		Konzentration Millimol/Liter	50 proz. Blutkörp.-Aufschw. ccm	Sedimentierung nach	
			1 Std.	2 Std.			1 Std.	2 Std.
1	NaCl 71,5	1	6	10	$BaCl_2$ 143	1	5	10
2	" 28,6	1	6	9	" 57,2	1	5	9
3	" 14,3	1	6	8	" 28,6	1	5	8
4	" 7,15	1	5	8	" 14,3	1	5	8
5	" 1,43	1	5	8	" 2,86	1	5	8
6	" 0,715	1	5	8	" 1,43	1	5	8
7	" 0,143	1	5	8	" 0,286	1	5	8
8	$CaCl_2$ 143	1	6	10	$MgCl_2$ 143	1	5	10
9	" 57,2	1	5	9	" 57,2	1	5	9
10	" 28,6	1	5	8	" 28,6	1	5	8
11	" 14,3	1	5	8	" 14,3	1	5	8
12	" 2,86	1	5	8	" 2,86	1	5	8
13	" 1,43	1	5	8	" 1,43	1	5	8
14	" 0,286	1	5	8	" 0,286	1	5	8
15	—	1	5	8	—	1	5	8

und die Sedimentierungszeit bleibt in sämtlichen Röhrchen gleich (Tabelle X).

Wenn wir die Ergebnisse der Untersuchungen über die Beeinflussung der Senkungsgeschwindigkeit von gewaschenen roten Blutkörperchen zusammenfassen, so ergibt sich die auffallende Tatsache, daß fast sämtliche Nichtelektrolyte die Sedimentierung der roten Blutkörperchen nicht beeinflussen, und die sie beeinflussen, wie Äthylalkohol, Propylalkohol, Lecithin, die vermindern die Senkungsgeschwindigkeit. Es fragt sich nur, wie sich diese Beeinflussung erklären läßt. Dazu muß hervorgehoben werden, daß die Beeinflussung durchaus nicht mit der Oberflächenaktivität, Adsorbierbarkeit parallel geht, so daß hier auch die Theorie der

Sensibilierung von **Freundlich** und **Rona**[1]) uns im Stiche läßt. Man müßte eher auf eine chemische Wechselwirkung zwischen den wirkenden Stoffen einerseits und den roten Blutkörperchen andererseits denken. Um nun noch den Einwand zu entkräften, daß vielleicht durch Alkohole, Lecithin usw. das spezifische Gewicht oder die Viscosität der Suspensionsflüssigkeit sich sehr ändern, dienen folgende Zahlen.

Spezifisches Gewicht $^1/_{10}$-Äthylalkohol: 0,993
" " $^1/_{10}$-alk. Lecithin-Aufschwemmung: 0,993
" " $^1/_{10}$-alk. Cholesterin-Aufschwemmung: 0,993

Tabelle XII.

Nr.	Konzentration Millimol/Liter	50proz. Blutkörp.-Aufschw. ccm	Sedimentierung nach		Konzentration Millimol/Liter	50proz. Blutkörp.-Aufschw. ccm	Sedimentierung nach	
			1 Std.	2 Std.			1 Std.	2 Std.
1	$HgCl_2$ 0,2	1	5	7	$AlCl_3$ 0,04	1	Aggl.	
2	" 0,1	1	5	7	" 0,02	1	5	7
3	" 0,05	1	5	7	" 0,01	1	5	7
4	" 0,025	1	5	7	" 0,005	1	5	7
5	" 0,0125	1	5	7	" 0,0025	1	5	7
6	" 0,00625	1	5	7	" 0,00125	1	5	7
7	$ThCl_4$ 0,08	1	Aggl.		" 0,000625	1	5	7
8	" 0,04	1	Aggl.		" 0,0003125	1	5	7
9	" 0,02	1	5	8	" 0,00015625	1	5	7
10	" 0,01	1	5	8	" 0,000078	1	5	7
11	" 0,005	1	5	7	—	—	—	—
12	" 0,0025	1	5	7	—	—	—	—
13	" 0,00125	1	5	7	—	—	—	—

bei 20° C. Die geringe Verringerung des spez. Gew. mußte also eine Beschleunigung der Sedimentierung hervorrufen und eigentlich tritt das Gegenteil ein.

Die Viscositätsmessungen führten wir mit dem Ostwaldschen Viscosimeter aus: Physiologische Kochsalzlösung 1′30″; Äthylalkohol $^1/_{10}$ 1′51″, alkoholische Lecithinsuspension $^1/_{10}$: 1′54″, Äthylalkohol $^1/_2$ Mol. 1′36″, Propylalkohol $^1/_2$ Mol. 1′38″, Propylurethan $^1/_8$ Mol. 1′38″. Die geringe Erhöhung der Viscosität kann die Änderung der Senkungsgeschwindigkeit nicht erklären, zumal wie beim Propylurethan und Propylalkohol bei gleichen

[1]) H. **Freundlich** und P. **Rona**, Über die Sensibilisierung der Ausflockung von Suspensionskolloiden durch capillaraktive Nichtelektrolyte. Diese Zeitschr. **81**, 89. 1917; vgl. auch P. **Rona** und P. **György** l. c.

Tabelle XIII.

Nr.	Konzentration Millimol/Liter	50 proz. Blutkörp.-Aufschw. ccm	Sedimentierung nach 1 Std.	Sedimentierung nach 2 Std.	Konzentration Millimol/Liter	50 proz. Blutkörp.-Aufschw. ccm	Sedimentierung nach 1 Std.	Sedimentierung nach 2 Std.
1	NaJ 71,5	1	6	9	KCNS 71,5	1	5	8
2	„ 28,6	1	5	8	„ 28,6	1	5	8
3	„ 14,3	1	5	8	„ 14,3	1	5	7
4	„ 7,15	1	5	7	„ 7,15	1	5	7
5	„ 1,43	1	5	7	„ 1,43	1	5	7
6	„ 0,715	1	5	7	„ 0,715	1	5	7
7	KCl 71,5	1	6	9	Na_2SO_4 143	1	5	9
8	„ 28,6	1	5	8	„ 57,2	1	5	8
9	„ 14,3	1	5	8	„ 28,6	1	5	8
10	„ 7,15	1	5	7	„ 14,3	1	5	7
11	„ 1,43	1	5	7	„ 2,86	1	5	7
12	„ 0,715	1	5	7	„ 1,43	1	5	7
13	—	1	5	7	—	1	5	7

Viscositätswerten verschiedenes Verhalten beobachtet werden kann. In Erwägung gezogen werden kann noch die Möglichkeit der Änderung der Viscosität der Blutkörperchensubstanz selbst. Dafür spräche auch die Lipoidlöslichkeit der aktiven Stoffe.

Die Elektrolyte kamen im allgemeinen in $^{n}/_{7}$-Lösung zur Verwendung. Die Verdünnungen wurden mit 8 proz. Rohrzuckerlösung hergestellt. Ein Einfluß auf die Senkungsgeschwindigkeit durch Elektrolyte konnte weder durch Kationen noch durch

Tabelle XIV.

Nr.	Konzentration Millimol/Liter	50-proz. Blutkörp.-Aufschw. ccm	Sedimentierung nach 1 Std.	Sedimentierung nach 2 Std.	Konzentration Millimol/Liter	50 proz. Blutkörp.-Aufschw. ccm	Sedimentierung nach 1 Std.	Sedimentierung nach 2 Std.
1	K_4FeCy_6 18,0	1	5	8	Phosphatgemisch $^{1}/_{7}$ 100	1	6	9
2	„ 10,8	1	5	8	„ 40	1	5	8
3	„ 7,2	1	5	7	„ 20	1	5	8
4	„ 5,4	1	5	7	„ 10	1	5	7
5	„ 2,88	1	5	7	„ 2	1	5	7
6	„ 1,8	1	5	7	„ 1	1	5	7
7	$NaNO_3$ 71,5	1	6	9	$NaNO_3$ 0,715	1	5	7
8	„ 28,6	1	5	8	—	1	5	7
9	„ 14,3	1	5	7	—	1	—	—
10	„ 7,15	1	5	7	—	1	—	—
11	„ 1,43	1	5	7	—	1	—	—

Tabelle XV.

Nr.	Konzentration Millimol/Liter		50 proz. Blutkörp.-Aufschw. ccm	Sedimentierung nach 1 Std.	Sedimentierung nach 2 Std.
1	Strychninnitrat	5	1	6	10
2	"	2	1	6	10
3	"	1	1	6	10
4	"	0,5	1	6	10
5	"	0,1	1	6	10
6	"	0,05	1	6	10
7	Chinin-HCl	5	1	6	10
8	"	2	1	6	10
9	"	1	1	6	10
10	"	0,5	1	6	10
11	"	0,1	1	6	10
12	"	0,05	1	6	10
13	—		1	6	10

Tabelle XVI.

Nr.	Konzentration Millimol/Liter		50 proz. Blutkörp.-Aufschw. ccm	Sedimentierung nach 1 Std.	Sedimentierung nach 2 Std.	Konzentration Millimol/Liter		50 proz. Blutkörp.-Aufschw. ccm	Sedimentierung nach 1 Std.	Sedimentierung nach 2 Std.
1	Methylenblau	0,5	1	6	10	Eosin	0,5	1	6	10
2	"	0,2	1	6	10	"	0,2	1	6	10
3	"	0,1	1	6	10	"	0,1	1	6	10
4	"	0,05	1	6	10	"	0,05	1	6	10
5	"	0,01	1	6	10	"	0,01	1	6	10
6	"	0,005	1	6	10	"	0,005	1	6	10
7	Kongorot	0,5	1	6	10	Krystallviolett	1	1	6	10
8	"	0,2	1	6	10	"	0,4	1	6	10
9	"	0,1	1	6	10	"	0,2	1	6	10
10	"	0,05	1	6	10	"	0,1	1	6	10
11	"	0,01	1	6	10	"	0,05	1	6	10
12	"	0,005	1	6	10	"	0,01	1	6	10
13	—		1	6	10	—		1	6	10

Anionen der gewöhnlichen Salze, der Farbstoffe oder der angewendeten Alkaloide festgestellt werden. In einzelnen Proben täuscht eine Beeinflussung der Umstand vor, daß in diesen Proben die Elektrolytlösungen allein oder nur mit wenig Zusatz an Rohrzuckerlösung verwendet werden, und das spez. Gew. der reinen Elektrolytlösung doch bedeutend kleiner ist als das einer 8 proz. Rohrzuckerlösung. So beträgt das spez. Gew. einer physiologischen NaCl-Lösung 1,006 und das einer 8 proz. Rohrzuckerlösung 1,039. — Bei den Schwermetallsalzen mußten kleine Konzentrationen angewendet werden, da sie in höheren Konzentrationen die Blutkörperchen ausfällen. Bei der Abstufung der Konzentration konnte bei einer Konzentration, die an eine Konzentration angrenzt, welche agglutinatorisch wirkt, bei der aber keine sichtbare Agglutination nachzuweisen ist, eine geringe Beschleunigung der Sedimentierung beobachtet werden, die nach aller Wahrscheinlichkeit durch unsichtbare, mikroskopische Agglutination erklärt werden muß (Tabelle XI, XII, XIII, XIV, XV, XVI).

Zusammenfassung.

1. Durch einige lipoidlösliche Stoffe wie Lecithin, Äthyl-, Propylalkohol wird die Senkungsgeschwindigkeit von gewaschenen Blutkörperchen verringert.

2. Die meisten Nichtelektrolyte, ebenso sämtliche Elektrolyte, Chinin, Strychnin und Farbstoffe wie Methylenblau, Eosin, Kongorot, Krystallviolett lassen die Sedimentierung von gewaschenen in Rohrzuckerlösung suspendierten Blutkörperchen unbeeinflußt.

Über die Beziehung von Druck, Temperatur und Fermentwirkung.

Von

Sigmund Fränkel.

(Aus dem Laboratorium der Ludwig Spiegler-Stiftung.)

I. Mitteilung.

Die Wirkung von Druck auf die Geschwindigkeit der Fermenthydrolysen durch Pepsin, Trypsin und Diastase.

Von

Gino Meldolesi (Rom).

(Eingegangen am 9. Januar 1921.)

Mit 6 Abbildungen im Text.

Van t'Hoff hat gezeigt, daß sämtliche chemische Reaktionen in ihrer Geschwindigkeit abhängig sind von der Temperatur. Die Erhöhung der Temperatur um je 10 Grade macht eine Beschleunigung der Reaktionsgeschwindigkeit auf das 2—3fache aus. Diese Regel wird allgemein als Reaktionszeit-Geschwindigkeitsregel (R.G.T.-Regel) bezeichnet. Selbstverständlich gilt auch diese Reaktionsgeschwindigkeitsregel in bezug auf die Temperatur bei Fermentwirkungen, und es ist bekannt, daß innerhalb bestimmter Temperaturgrenzen, welche gegeben sind durch die Widerstandsfähigkeit der Fermente selbst gegenüber Temperaturerhöhungen, diese Regel gültig ist und daß die Höchstwirkung der Fermente ungefähr etwas niedriger ist als die Temperatur, bei welcher die Fermente durch die Erwärmung Schaden leiden oder vielleicht zerstört werden. Einzelne dieser Fermente, wie die diastatischen, sind widerstandsfähiger und können das Maximum in ihrer Wirkung selbst bei 55° und etwas höher äußern. Man erhält bei diesen Fermentreaktionen in vitro sogenannte „falsche Gleichgewichte", welche ebenso wie die echten Reaktions-

gleichgewichte durch Hinzufügen von Substraten, zu spaltenden Stoffen oder reagierenden im allgemeinen, durch Entfernung von Reaktionsprodukten, durch Konzentration oder Verdünnung der Reaktionsflüssigkeit und schließlich durch Änderung der Reaktionstemperatur verschoben werden können.

Durch Temperaturerhöhung kann man ebenfalls stehen gebliebene Enzymreaktionen zum weiteren Fortschreiten bringen. Man kann aber auch die Wirkung der Fermente durch einen Zusatz der Reaktionsprodukte schwächen.

Schon Berthelot hat den Satz ableiten können: Bilden die Temperaturen eine arithmetische Reihe, so bilden die Geschwindigkeiten eine geometrische. Van t'Hoff zeigte dann, daß bei höheren Temperaturen der Einfluß einer Temperatursteigerung von 10° ein etwas geringerer auf den Geschwindigkeitskoeffizienten sein wird, als bei niedrigeren Temperaturen. Während aber bei chemischen Reaktionen im Temperaturintervall 0°—10° das Geschwindigkeitsverhältnis 2,92 ist, ist es für Phosphorwasserstoff bei Temperaturen zwischen 310—512° 1,20.

Bei der größten Zahl der untersuchten Fälle verdoppelt oder verdreifacht sich die Reaktionsgeschwindigkeit, so z. B. bei der Einwirkung von Methyljodid auf Natriumäthylat, Oxydation von Ferrosulfat durch Kaliumchlorat, Abspaltung von Salzsäure aus Äthylenchlorhydrat, Monomethyläthylenchlorhydrat, Dimethyläthylenchlorhydrat, Trimethyläthylenchlorhydrat und aus α-Dichlorhydrin, bei der Inversion des Rohrzuckers durch Säuren, der Reaktion zwischen Monochloressigsäure und Natronlauge usf.

Diese Temperaturregel ist an vielen Beispielen erhärtet, so nimmt die Giftigkeit anorganischer und organischer Verbindungen in der Weise zu, daß mit der Erhöhung der Temperatur die Giftigkeit meist auf das Dreifache bei 10° zunimmt.

Auch bei der Respiration der Pflanze liegen ähnliche Tatsachen vor. Es werden nämlich die im gleichen Zeitraume ausgeatmeten Mengen der Kohlensäure zwischen 0°—25° beim Weizen im Mittel 2,46, bei Lupine 2,45 und bei Syringa 2,47 mal größer für je 10° Temperatursteigerung. Oberhalb 25° nimmt die Geschwindigkeitszunahme des Stoffwechsels ab und oberhalb 50° nähert sie sich derjenigen, welche bei niederen Temperaturen besteht [1]).

[1]) Clausen, Landw. Jahrbücher **19**, 894. 1890.

Bei all diesen Reaktionen genügt bereits eine Temperaturerhöhung von 30°, um die Reaktionsgeschwindigkeit auf das fünfzigfache zu vergrößern.

Zahlreiche Beispiele physiologischer Art hat insbesondere A. Kanitz[1]), zusammengestellt. Die Regel stimmt für die Ausatmung von Kohlensäure durch Pflanzen, Frösche und Kaninchen, für die Sprossung von Hefe und Gärung durch Hefe, für die Kohlensäureassimilation durch Chlorophyll, für die Zellteilung befruchteter Eier, für den Herzschlag, für die Rhythmik der glatten Muskeln und die Fortpflanzungsgeschwindigkeit des Reizes im Nerven und für die Fermentreaktionen[2]).

Die Beziehung des Druckes hingegen zur Wirksamkeit der Fermente ist bis jetzt nicht berücksichtigt worden, obgleich es von Wichtigkeit erscheinen müßte, zu untersuchen, ob nicht eine zweite Komponente, der Druck, die Reaktionsgeschwindigkeit in gleichem Maße beschleunigt. Es war nun vielfach die Annahme gemacht, daß die Fermente vermöge ihres kolloidalen Zustandes in der Weise wirken, daß sie auf ihrer Oberfläche (und das gilt auch für die anorganischen Katalysatoren) die zu spaltenden oder zu synthetisierenden Verbindungen verdichten und so die Reaktionsgeschwindigkeit eines gegebenen Prozesses beschleunigen. Die allgemeine Laboratoriumserfahrung zeigt, daß der Ablauf eines Fermentprozesses in vitro in bezug auf die Geschwindigkeit zurücksteht hinter dem Ablauf des gleichen Prozesses im lebenden Organismus, eine Differenz, für die mehrfach in der Weise eine Erklärung gesucht wurde, daß man annahm, daß die Produkte einer Pepsin- bzw. Trypsinverdauung in vitro nicht entfernt werden und dann reaktionshemmend wirken, während sie in vivo kontinuierlich durch Resorption aus dem Reaktionsmedium entfernt werden. Man kann aber, und das war für uns untersuchenswert, neben dieser Annahme, die ja vorher schon besprochen wurde, eine andere Annahme machen, nämlich die, ob nicht der Zelldruck oder der Druck überhaupt konkurrierend neben der Resorption der Spaltprodukte eine Wirkung äußert.

Der Druck übt einen Einfluß auf die Reaktionsgeschwindigkeit aus. Bei einem Druck von 16 Atm. findet die Umwandlung monosymmetrischen Schwefels in rhombischen bei 96,2° statt, während diese Umwandlung bei

---

[1]) Zeitschr. f. Elektrochemie 707. 1907.

[2]) Emulsin, Tammann, Zeitschr. f. physikal. Chemie III, 25, XVIII, 426; Zeitschr. f. physiol. Chemie 16, 271; Trypsin, Bayliss, Arch. des sciences biol. 11, Suppl. Petersburg 1904.

derselben Temperatur unter Atmosphärendruck in entgegengesetzter Richtung verläuft[1]).

Später fanden Spring und van t'Hoff, daß das Kupfercalciumacetat, welches sich unter Atmosphärendruck bei 77° in seine Komponenten spaltet, diese Spaltung schon bei 44° zeigt, wenn der Druck 6000 Atm. beträgt[2]). Spring hat Verbindungen des Schwefels und Arsens mit verschiedenen Metallen unter Anwendung sehr hoher Drucke dargestellt[3]).

Eine große Anzahl von Reaktionen kann durch plötzlichen Druck eintreten[4]).

Berthelot und Péan de St. Gilles[5]) konnten keinen Unterschied in der Ätherifizierungsgeschwindigkeit eines Alkohols durch eine Säure bei verschiedenen Drucken finden.

So fand auch van t'Hoff, daß die Geschwindigkeit, mit welcher die Dibrombernsteinsäure sich bei 100° in wässeriger Lösung zersetzt, unabhängig vom Drucke ist.

Röntgen[6]) studierte den Einfluß des Druckes auf die Inversionsgeschwindigkeit des Rohrzuckers durch Salzsäure. Der von ihm angewandte Druck betrug 500 Atm., während Berthelot und Péan de St. Gilles bei 50, van t'Hoff bei 6 Atm. gearbeitet hat. Röntgen fand, daß die Inversionsgeschwindigkeit durch Druck vermindert wird, aber seine Versuche berechtigen nach van t'Hoffs Meinung nicht zu diesem Schlusse. Berechnet man nämlich aus seinen Zahlen die Konstante der Inversionsgeschwindigkeit, so weichen die Werte der Konstante derselben Lösung zu verschiedenen Zeiten viel erheblicher voneinander ab, als die Konstanten der unter gewöhnlichem und eine Zeitlang unter dem Drucke von 500 Atm. invertierten Lösungen. Die von Röntgen beobachteten Verschiedenheiten im Verlauf der Inversionsreaktion unter verschiedenen Drucken sind somit kleiner als die nicht unbedeutenden Fehler seiner Messung, die sich durch Temperaturschwankungen seiner Lösungen vollkommen erklären lassen.

Bei Anwendung von schwachen oder mittelstarken Säuren dürfte eine meßbare Beschleunigung der Reaktion eintreten, da dort der Einfluß des äußeren Druckes auf den Dissoziationsgrad der benutzten Säure nach Tammanns Rechnung ein sehr bedeutender ist[7]).

Die Zellen des Organismus haben nun nicht normalen Atmosphärendruck, sondern sicherlich einen höheren. Für die Epithel-

[1]) Reicher, Groths, Zeitschr. f. Krystallographie 8, 593. (1884). Inaug.-Diss. Amsterdam 1883.

[2]) I. H. van t'Hoff, Studien zur chem. Dynamik 1896.

[3]) Bull. de l'acad. roy. de Belgique, Serie 2, t. XLV, XLIX B.B. XV, 595.

[4]) Meyer, Dynamik der Atome 1883, 393.

[5]) A. P. (3) LXVI. 45.

[6]) Wiedemanns Annalen 45, 18.

[7]) Tammann, Zeitschr. f. phys. Chemie 14, 444; 17, 725.

zellen der Magenwand z. B. und der Drüsen von Dolium Gallia haben Luca und Panceri einen Druck von $4^1/_2$ Atm. berechnet [1]).

Wir wollten, um dem Problem näherzukommen, vorerst untersuchen, wie sich fermentative Prozesse, welche ja nur innerhalb gewisser Temperaturgrenzen laufen, unter verschiedenen Drucken verhalten.

Die Versuche wurden in der Weise angestellt, daß der gleiche fermentative Ansatz (Substrat und Ferment) halbiert wurde. Die eine Hälfte wurde bei gewöhnlichem Drucke im Thermostaten gehalten, die andere Hälfte im gleichen Thermostaten in einem Autoklaven unter Druck von Kohlensäure oder Stickstoff gesetzt. Wir wählten diese zwei Gase aus dem Grunde, weil bei der Pepsinverdauung etwa die Kohlensäure das drückende Gas sein könnte, andererseits wurde im Stickstoff ein Gas gewählt, welches die Reaktion des Mediums im Gegensatz zur Kohlensäure nicht beeinflussen konnte. Wir haben die Drucke vorerst so gewählt, daß wir die fermentativen Prozesse bei 5,10 und 15 Atm. durchgeführt haben. Wir fanden nun, wie im Versuchsteil beschrieben ist, daß der Druck von 5 Atm. vorerst eine sehr hohe Beschleunigung hervorrief, die im weiteren Verlaufe absank, aber noch immer deutlich sichtbar war. Das gleiche Verhalten sah man bei einem Drucke von 10 Atm. In den ersten 2 Stunden war die Beschleunigung eine sehr hohe, aber geringer als bei 5 Atm., späterhin sank sie ab, war aber immer noch höher als bei Atmosphärendruck, aber immer geringer als bei 5 Atm. Diese Beobachtung wurde bei Versuchen mit Pepsin, Diastase und Trypsin gemacht. Sie sind nach unseren Versuchen ganz unabhängig von der Natur des drückenden Gases. Man sieht hier eine merkwürdige Analogie zu dem Verhalten der Reaktionen bei verschiedenen Temperaturen. Wird bei den Reaktionen die optimale Temperatur überschritten, so wird die Beschleunigung noch geringer.

Plotnikoff konnte schon zeigen [2]), daß die van t'Hoff-Regel nur im Temperaturgebiet bis 300° gilt. Während in diesem Bereiche $Q_{10} = 2 - 3$, beträgt Q_{10} zwischen 300 bis 600° nur noch ungefähr 1,5 und wird bei höherer Temperatur noch geringer. Bei sehr niedrigen Temperaturen soll dagegen der Wert auf 6 ansteigen.

---

[1]) Compt rend. **65**, 571 u. 712.

[2]) Zeitschr. f. physikal. Chemie **53**, 605. 1905.

Bei Fermenten, die nur auf ein kleines Temperaturintervall eingestellt sind, scheint ganz analog der Druck nur innerhalb bestimmter Grenzen beschleunigend zu wirken. Über ein bestimmtes Maß hinaus wird das Druckoptimum überschritten, die beschleunigende Wirkung ist noch zu sehen, sinkt aber gegenüber dem Optimum ab.

Im Verlaufe der Untersuchung soll nun die allgemeine Gültigkeit dieser Regel, welche vorerst bei dreispaltenden Fermenten festgestellt und bei drei verschiedenen Drucken geprüft wurde, durch eine feinere Apparatur und Messung in engeren Grenzen der optimale Druck und die Gesetzmäßigkeit seines Abfalles nach beiden Richtungen hin geprüft werden.

Versuchsteil.

Pepsin.

Blutalbumin wurde mit wenig Lauge gelöst und bei Gegenwart von verdünnter Essigsäure und Kochsalz in der Siedehitze koaguliert. Das Koagulum wurde gut ausgewaschen und für jeden Versuch 60 g feucht ausgewogen und in 600 ccm einer Verdauungslösung gebracht, welche 1‰ gut wirkendes Pepsin und $1^1/_2$‰ Salzsäure enthielt. Diese Konzentration des uns zur Verfügung stehenden Pepsinpräparates erwies sich für unsere Zwecke als sehr günstig. Sämtliche Verdauungsversuche wurden bei einer Thermostatentemperatur von 36,4° gemacht. Die Geschwindigkeit des Reaktionsverlaufes wurde in der Weise gemessen, daß von Zeit zu Zeit ein kleines Quantum der Verdauungslösung abpipettiert wurde. Die Flüssigkeit wurde zentrifugiert und filtriert und in 20 ccm der Stickstoff nach Kjeldahl bestimmt. Die in Lösung gegangene Stickstoffmenge zeigt die Größe des verdauten Eiweißes an und ist daher ein Maß für die Geschwindigkeit des Prozesses. Die Versuchsanordnung wurde so gewählt, daß unter allen Umständen beim Abbrechen des Versuches freie Salzsäure vorhanden war und ebenso noch reichlich unverdautes Eiweiß.

Es zeigt sich nun, daß in den ersten 2 Stunden die verdaute Menge bei normalem Atmosphärendruck gegenüber der Menge bei 5 und 10 Atmosphärendruck erheblich differiert und zwar so, daß die Versuche unter Druck stets höhere Werte geben. Die Versuche unter Druck differieren untereinander in dem Sinne,

Tabelle I.

Pepsinversuch. I. Kohlensäuredruck. Temp. 36,4°.

Reaktionszeit	Atmosphärendruck	5 Atmosphärendruck		10 Atmosphärendruck	
	N-Menge mg	N-Menge mg	Faktor %	N-Menge mg	Faktor %
2 Stunden	0,882	3,468	390	2,604	290
4 „	6,282	8,624	137	7,602	120
6 „	11,01	13,3	120	12,602	109
8 „	15,932	19,2	120	18,14	113

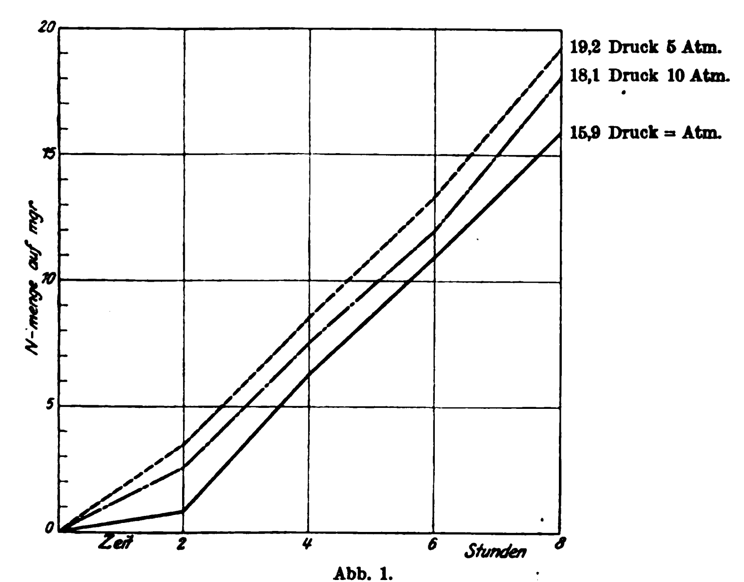


Abb. 1.
50 g Blutalbumin, 600 ccm Verdauungslösung (1‰ HCl, 1‰ Pepsin), Kjeldhal N.-Best. auf 20 ccm.

Tabelle II.

Pepsin. II. Stickstoffdruck. Temp. 36,4°.

Reaktionszeit	Atmosphärendruck	5 Atmosphärendruck		10 Atmosphärendruck	
	N-Menge mg	N-Menge mg	Faktor %	N-Menge mg	Faktor %
2 Stunden	3,136	9,016	287	5,56	177
4 „	7,458	10,318	139	8,63	115,8
6 „	12,502	16,464	132	14,89	119
8 „	14,969	17,85	119	15,62	104

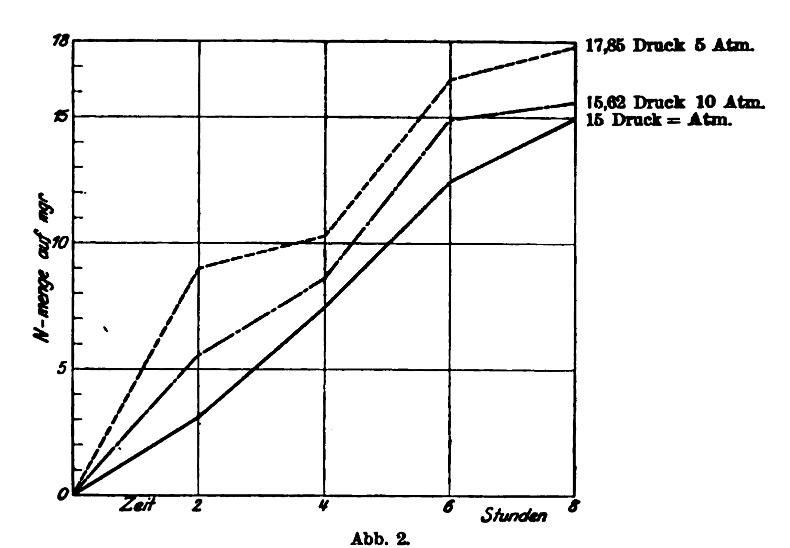


Abb. 2.
50 g Blutalbumin, 600 ccm Verdauungslösung (1‰ Pepsin, 1‰ HCl), Kjeldhal N.-Best. auf 20 ccm.

Tabelle III.

Pepsin. III. Kohlensäuredruck. Temp. 36,4.

Reaktionszeit	Atmosphärendruck	5 Atmosphärendruck		10 Atmosphärendruck	
	N-Menge mg	N-Menge mg	Faktor %	N-Menge mg	Faktor %
2 Stunden	0,81	5,4	660	2,8	345
4 "	3,2	8,04	251	5,1	159
9 "	5,16	10,36	200	—	—
28 "	12,16	17,04	140	—	—
45 "	14,00	18,9	135	—	—

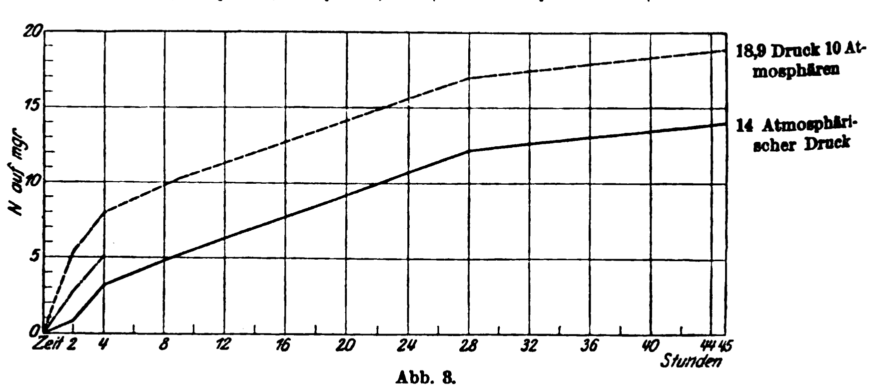


Abb. 3.
Kjeldhal N.-Best. auf 20 ccm.

daß die Versuche unter höherem Drucke als 5 Atmosphären eine geringere Beschleunigung zeigen als bei 5 Atmosphären. Ferner ist sehr auffällig, daß die Hauptbeschleunigung in den ersten zwei Stunden bei allen Überdruckversuchen einsetzt, um später abzufallen.

Trypsin.

80 g koaguliertes feuchtes Blutalbumin werden mit 800 ccm einer Verdauungsflüssigkeit übergossen, welche im Liter 8 g Natriumcarbonat und 0,4 g Trypsin enthält. Die Versuche werden nach 19, 23 und 42 Stunden geprüft.

Zur Analyse werden von der Versuchsflüssigkeit 20 ccm entnommen, zentrifugiert und filtriert und vom Filtrat 10 ccm mit wenig Essigsäure angesäuert, aufgekocht und quantitativ abfiltriert und mit schwach essigsaurem Wasser

Tabelle IV.

Trypsinversuch. Kohlensäuredruck. Temp. 36,4.

Reaktionszeit	Atmosph.-druck	5 Atmosphärendruck	
	N-Menge mg	N-Menge mg	Faktor %
19 Std.	16,36	29,26	178
23 „	18,08	29,08	164
42 „	21,73	40,46	186

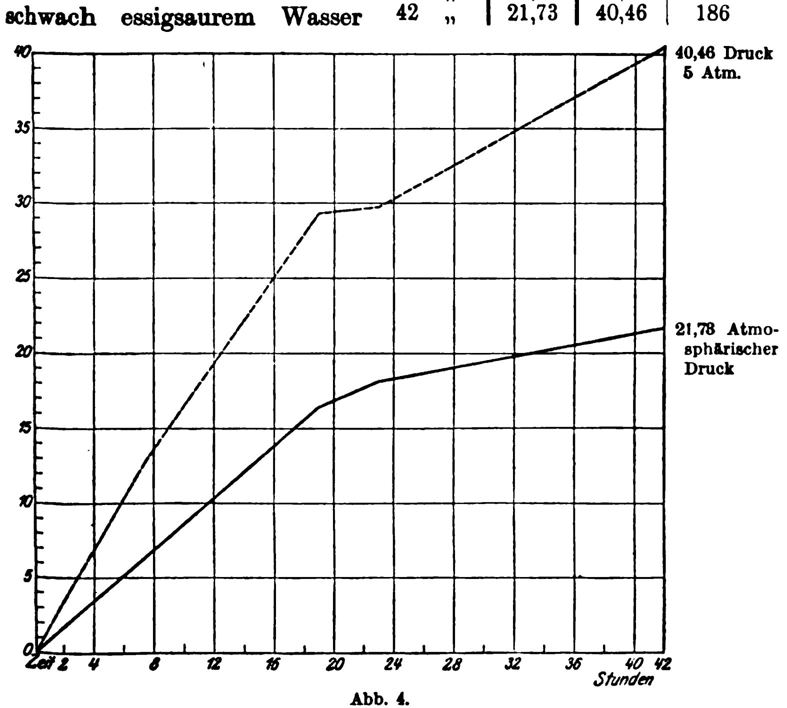


Abb. 4.
50 g Albumin, 0,4‰ Trypsin, Kjeldhal auf 20 ccm.

nachgewaschen. Die Flüssigkeit wird auf dem Wasserbade eingeengt und der Sirup für die N-Bestimmung nach Kjeldahl verwendet.

Beim Trypsinversuch sieht man die Beschleunigung durch den Druck viel gleichmäßiger, unabhängig von der Zeit, sie schwankt in engen Grenzen zwischen 1,64—1,86 für 5 Atmosphären.

Tabelle V.

Diastaseversuche. I. Kohlensäuredruck. Temp. 19°.

Reaktions-zeit	Atmosphärendruck		5 Atmosphärendruck			10 Atmosphärendruck			15 Atmosphärendruck		
	Zucker mg	Bemerkungen	Zucker mg	Faktor %	Bemerkungen	Zucker mg	Faktor %	Bemerkungen	Zucker mg	Faktor %	Bemerkungen
1 Std.	3,86		9,119	235	blaue Jod-Reaktion	5,29	137	blaue Jod-Reakt.	4,67	121	blaue Jod-Reakt.
2 "	6,94		12,7	180	rote "	7,7	111	"	—	—	
3 "	9,37	blaue Jod-Reakt.	16,2	173	leichte rote Jod-Reakt.	10,4	111	rote Jod-Reakt.	—	—	

Tabelle VI.

II. Stickstoffdruck. Temp. 19°.

Reaktions-zeit	Atmosphärendruck		5 Atmosphärendruck			10 Atmosphärendruck		
	Zucker mg	Bemerkungen	Zucker mg	Faktor %	Bemerkungen	Zucker mg	Faktor %	Bemerkungen
1 Std.	0,2		4,16	—		0,89	—	
2 "	3,3		7,74	235	blaue Jod-Reakt.	4	121	
3 "	4		8,86	223	rote "	6,05	150	blaue Jod-Reakt.
4 "	5,36	blaue Jod-Reakt.	13,21	246	leichte "	10,32	192	rote "

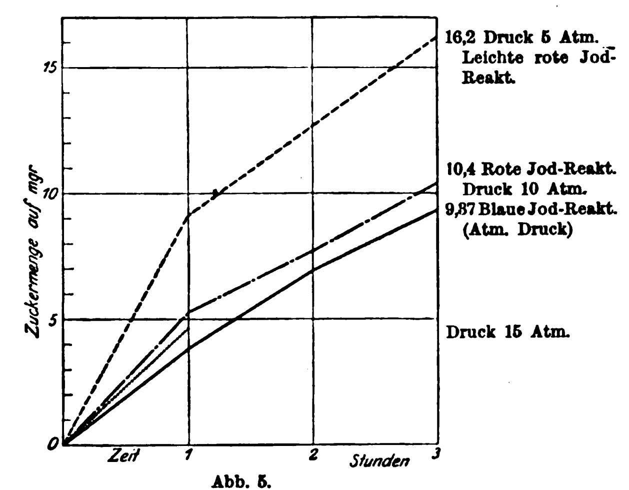


Abb. 5.
250 ccm Stärkelösung (2%), 10 ccm Diastaselösung (1°/₀₀). Lehmannsche Zuckertitrierung, pro 40 ccm Lösung.

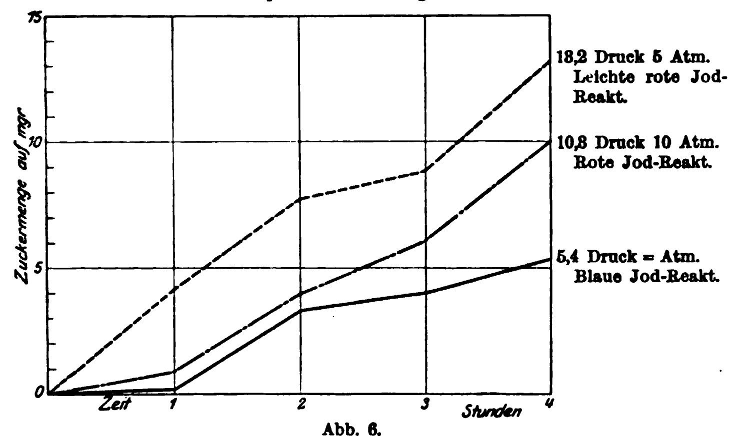


Abb. 6.
250 ccm Stärkelösung (2°/₀), 10 ccm Diastaselösung (1°/₀₀). Lehmannsche Zuckertitrierung, pro 40 ccm Lösung.

Diastase.

Zum Versuch werden 250 ccm 2 proz. Arrowroot-Stärkelösung und 10 ccm 1°/₀₀ Takadiastaselösung bei 19° zusammengebracht. Der eine Versuch läuft bei normalem Drucke, die anderen bei 5, 10 und 15 Atmosphären.

Jede Stunde werden 20 ccm der Lösung entnommen und für die Lehmannsche Zuckertitration verwendet. Hier sieht man ebenfalls die Erscheinung der starken Beschleunigung der Reaktion bei Überdruck in den ersten 2 Stunden, die später geringer wird, aber konstant bleibt. Ferner sieht man die gleiche Differenz wie beim Pepsinversuch bei Verwendung verschiedener Drucke.

Über Kalkbindung durch tierische Gewebe. II.

Von

E. Freudenberg und **P. György.**

(Aus der Kinderklinik in Heidelberg.)

(Eingegangen am 9. Januar 1921.)

In der vorhergehenden Mitteilung[1]) haben wir die Abhängigkeit der Ca-Bindung an Knorpel von der H-Ionenkonzentration nachgewiesen und die Annahme vertreten, daß dieser Bindung eine Verdrängung von Alkali aus dem Gewebe entspricht. Es blieb in erster Linie der Einfluß des Anions, mit welchem Ca^{++} eingeführt wird, zu prüfen, sowie die Beeinflussung des Vorganges durch andere Kationen zu untersuchen.

1. Wirkung verschiedener Anionen auf die Kalkbindung durch Knorpel.

Wir berichten zunächst über Versuche an getrocknetem Kalbsknorpel. Da es sich gezeigt hatte, daß zu starkes Erhitzen die kalkbindende Funktion des Knorpels schädigt, haben wir dafür Sorge getragen, daß die Temperatur von 45° niemals überschritten wurde. Unsere Versuchsanordnung war die schon beschriebene, nur haben wir auf die Anwendung von Puffergemischen in diesen Versuchen verzichtet. Die Reaktion wurde stets mit Indikatoren, stichprobenweise auch mittels elektrometrischer Messung kontrolliert. Es traten keine Unterschiede im p_H bei der Anwendung der verschiedenen Anionen und Kationen auf, die nach unseren früheren Erfahrungen Einfluß auf die Kalkbindung haben konnten. Bei der Erklärung unserer Versuche können wir also „Konkurrenz der Wasserstoffionen" ausschließen. Nachdem sich in unseren bisherigen Versuchen mit $CaCl_2$ ergeben hatte, daß die Konzentration des Anions niemals eine Verminderung bei der „Kalkbindung" erfährt, haben wir auf die Bestimmung der Anionen in diesen neuerlichen Versuchen verzichten zu dürfen geglaubt.

1. Je 3 g getrockneten Kalbsknorpels in 40 ccm der unten bezeichneten Kalksalzlösungen eingelegt. Xylol als Desinfiziens. Dauer 3 Tage.

[1]) Diese Zeitschr. **110**. 1920.

	Chlorid	Jodid	Nitrat	Sulfat	Rhodanid	Lactat	Acetat
Normalität von Ca vor dem Versuche	0,0536	0,0370	0,0410	0,0270	0,0480	0,0620	0,0400
Normalität von Ca nach d. Versuche	0,0400	0,0232	0,0300	0,0168	0,0340	0,0470	0,0254
Bindung in %. .	25,3	37,3	26,8	37,8	29,1	24,5	36,5

2. Je 4 g getrockneten Kalbsknorpels auf 40 ccm Lösung unter Toluolzusatz. Dauer 3 Tage.

	Chlorid	Bromid	Jodid	Nitrat	Sulfat	Rhodanid	Lactat	Acetat
Normalität an Ca vor d. Versuche	0,0536	0.0470	0,0370	0,0410	0,0270	0,0444	0,0620	0,0400
Normalität an Ca nach d. Versuche	0,0324	0,0264	0,0152	0,0216	0,0142	0,0250	0,0384	0,0226
Bindung in %	40,3	43,8	58,9	47,3	47,4	43,7	38,1	43,5

3. 4 g Kalbstrockenknorpel auf 50 ccm Lösung. Anwendung eines verdünnten Acetatpuffergemisches. p_H 5,50. Dauer 3 Tage.

	Chlorid	Bromid	Jodid	Nitrat	Sulfat	Rhodanid	Lactat
Normalität an Ca vor dem Versuche	0,0080	0,0080	0,0074	0,0082	0,0068	0,0082	0,0062
Normalität an Ca nach d. Versuche	0,0126	0,0166	0,0144	0,0110	0,0130	0,0152	0,0130
Bindung in % . .	0	0	0	0	0	0	0

Infolge der niedrigen Ca-Konzentration liegt nicht nur keine Bindung, sondern Ausdiffundieren von Ca vor.

4. Je 5 g Kalbstrockenknorpel auf 50 ccm Lösung. Dauer 4 Tage.

	Chlorid	Bromid	Jodid	Nitrat	Sulfat	Rhodanid	Lactat	Acetat
Normalität an Ca vor d. Versuche	0,0160	0,0160	0,0158	0,0164	0,0136	0,0162	0,0124	0,0164
Normalität an Ca nach d. Versuche	0,0048	0,0044	0,0034	0,0042	0,0046	0,0036	0,0030	0,0046
Bindung in %	70,0	72,5	77,0	74,4	66,2	78,0	75,8	72,0

Das Ergebnis dieser Versuchsreihe läßt sich dahin zusammenfassen, daß eine auffallende Gleichförmigkeit der Kalkbindung bei den verschiedenen Anionen besteht. Namentlich im Versuch 4, in dem sorgfältiger auf Gleichheit der Konzentrationen geachtet wurde, tritt diese deutlich hervor. Versuch 3 läßt Bindung vermissen, es diffundiert Kalk aus, wie dies auf Grund der früheren Versuche leicht zu erklären ist als Wirkung der zu niedrigen

Konzentration und zu saurer Reaktion. Wir haben mit Absicht diese ungünstigen Verhältnisse gewählt, um unter diesen Bedingungen die etwaige begünstigende Wirkung eines Anions hervortreten zu sehen. Es zeigt sich also, daß Kalbsknorpel Ca-Ionen bindet, gleichgültig mit welchem Anion diese auftreten.

Wir untersuchten nunmehr unter den gleichen Bedingungen das Verhalten menschlichen Knorpels von den Leichen von Kindern verschiedener Altersstufen. Material von Rachitikern und Atrophikern blieb ausgeschlossen.

5. 5 Proben zu je 2 g getrockneten Knorpels von Epiphysen und Rippen zweier Neugeborener werden in je 20 ccm Lösung eingelegt. Versuchsdauer 3 Tage.

	Chlorid	Jodid	Rhodanid	Nitrat	Acetat
Ca-Normalität vor dem Versuch	0,0536	0,0370	0,0556	0,0410	0,0230
Ca-Normalität nach dem Versuch	0,0424	0,0234	0,0320	0,0396	0,0260
Bindung in %	20,9	36,7	42,4	3,4	0

6. Je 2 g getrockneter Rippen-, Brustbein- und Epiphysenknorpel in 20 ccm Lösung. Alter des Kindes: 3 Monate. Versuchsdauer 3 Tage.

	Chlorid	Rhodanid	Nitrat	Acetat
Ca-Normalität vor dem Versuch. . .	0,0472	0,0424	0,0320	0,0418
Ca-Normalität nach dem Versuch . .	0,0316	0,0254	0,0238	0,0364
Bindung in %.	33,1	40,9	25,6	12,9

7. Je 2 g getrockneter Knorpel von Sternum, Rippen und Epiphysen eines 5 monatigen Säuglings in 20 ccm Lösung für 5 Tage eingelegt.

	Chlorid	Jodid	Sulfat	Lactat	Nitrat	Acetat
Ca-Normalität v.d.Versuch	0,0536	0,0370	0,0270	0,0620	0,0410	0,0688
Ca-Normalität n.d.Versuch	0,0436	0,0232	0,0208	0,0384	0,0424	0,0648
Bindung in %	18,7	37,3	22,9	38,1	0	5,8

8. Je 2 g Trockenknorpel eines 1¼jährigen Kindes für 4 Tage in 20 ccm Lösung eingelegt.

	Chlorid	Rhodanid	Nitrat	Acetat
Ca-Normalität vor dem Versuch . .	0,0356	0,0424	0,0320	0,0380
Ca-Normalität nach dem Versuch . .	0,0112	0,0214	0,0160	0,0260
Bindung in %	68,5	49,4	50,0	31,5

9. Je 3 g Trockenknorpel eines 3jährigen Kindes für 3 Tage in je 30 ccm Lösung eingelegt.

	Rhodanid	Nitrat	Acetat
Ca-Normalität vor dem Versuch.	0,0556	0,0410	0,0440
Ca-Normalität nach dem Versuch	0,0344	0,0208	0,0402
Bindung in %.	38,1	49,3	9,5

10. Je 2 g Trockenknorpel eines 6jährigen Kindes 3 Tage in 20 ccm Lösung eingelegt.

	Chlorid	Jodid	Sulfat	Rhodanid	Nitrat	Acetat
Ca-Normalität v.d. Versuch	0,0536	0,0370	0,0270	0,0556	0,0320	0,0230
Ca-Normalität n.d. Versuch	0,0252	0,0244	0,0198	0,0332	0,0224	0,0192
Bindung in %	53,0	34,1	26,7	40,3	30,0	16,5

11. Je 3 g Trockenknorpel (Rippenknorpel), von einem 14jährigen Mädchen herrührend, in 30 ccm Lösung für 4 Tage eingelegt.

	Chlorid	Bromid	Sulfat	Rhodanid	Nitrat	Acetat
Ca-Normalität v.d. Versuch	0,0188	0,0470	0,0276	0,0424	0,0320	0,0380
Ca-Normalität n.d. Versuch	0,0100	0,0236	0,0150	0,0206	0,0130	0,0214
Bindung in %	46,8	49,6	45,5	51,4	59,3	43,7

12. Je 3 g getrockneten Rippenknorpels eines erwachsenen Mannes werden für 3 Tage in je 30 ccm Lösung eingelegt.

	Chlorid	Bromid	Rhodanid	Nitrat	Acetat
Ca-Normalität vor dem Versuch	0,0188	0,0470	0,0424	0,0320	0,0380
Ca-Normalität nach dem Versuch	0,0050	0,0230	0,0218	0,0218	0,0220
Bindung in %	73,4	51,1	48,5	31,8	42,1

Betrachten wir die Ergebnisse der Anionenversuche am menschlichen Knorpel, so stellen sie sich folgendermaßen dar: Am Knorpel vom Erwachsenen und dem des 14jährigen Mädchens[1]) läßt sich nicht mit Sicherheit eine Einwirkung der verschiedenen Anionen erkennen. Dagegen tritt diese am Knorpel des wachsenden Menschen, besonders dem des Säuglings, sehr deutlich hervor. Durchweg ist hier die Kalkbindung beim Acetat die schlechteste; in den Versuchen 5, 7 und 9 entweder gleich Null oder im Bereich der Fehlergrenze nahe dem Nullwert, in den Ansätzen 6, 8 und 10 weitaus am niedrigsten von allen Proben. Ungünstig für die Kalkbindung erweist sich in den Versuchen 5, 6, 7, nächst dem Acetat das Nitrat. Die Werte bei den übrigen Anionen schwanken bezüglich ihres gegenseitigen Verhaltens in unregelmäßiger Weise, vielleicht stellt Rhodanid beim jungen Säugling ein Optimum dar.

Wenn wir nach einer Erklärung für das Verhalten der Anionen, im besonderen für die ungünstige Wirkung von Acetat und Nitrat auf die Kalkbindung suchen, so bietet sich unseres Wissens nur ein einziges Analogon aus der Kolloidchemie. Dies ist das Verhalten von Chlorid, Nitrat und Acetat des Calciums bei

---

[1]) In diesem Alter sind beim weiblichen Geschlecht die Wachstumsvorgänge am Skelett als größtenteils abgeschlossen zu betrachten.

der Eiweißfällung, wie es von Lewith[1]) untersucht worden ist. Lewith findet Calciumacetat unwirksam, Calciumnitrat schwach wirksam (Grenzkonzentration 0,255 – 0,281 g in 1 ccm), Calciumchlorid stark wirksam (Grenzkonzentration 0,111 – 0,117 in 1 ccm). Diese Reihenfolge deckt sich mit derjenigen der Begünstigung der Kalkbindung im Knorpel und weist auf einen Zusammenhang beider Phänomene hin. Wir haben nicht versucht, die Erscheinung weiter zu analysieren, da uns die Erkenntnis der Ursache des differenten Verhaltens des Knorpels vor und nach dem Wachstumsabschluß bezüglich der Fähigkeit, Kalk aus Lösungen des Acetats und Nitrats zu binden, wichtiger zu sein scheint. Der Knorpel des Kalbes verhielt sich wie der des Erwachsenen, wir betonen aber, daß wir keine Gelegenheit hatten, Knorpel ganz junger Tiere zu untersuchen. Die Folgerung, daß die Konstitution der Knorpelmasse sich im Laufe des Wachstums ändert, ist auf Grund der Änderung des kolloid-chemischen Verhaltens unabweisbar. Tatsächlich sind ja durch die chemische wie histochemische Untersuchung[2]) Unterschiede zwischen jugendlichem und ausgewachsenem Knorpel erkannt worden, insbesondere, daß jenem das das Balkennetz bildende Albumoid fehlt. Die Ursache der beobachteten Unterschiede würden wir also in den Unterschieden der kolloiden Substrate sehen.

2. Wirkung anderer Kationen auf die Kalkbindung durch Knorpel.

Bei der Analyse von Ansätzen mit Lösungen, die andere, besonders zweiwertige Kationen enthalten, ist zu berücksichtigen, daß der Knorpel stets Ca enthält und solches neben anderen Kationen und Anionen an die Lösung abgibt. Dieser Umstand ist bei der Bestimmung des Magnesiums, Strontiums und Bariums wichtig. Die Abtrennung des Magnesiums von Calcium geschah in der üblichen Weise, die des Strontiums und Bariums so, daß Ca + Sr bzw. Ca + Ba als Oxalate gefällt, in die Oxyde übergeführt und mit verdünnter Salpetersäure titriert wurden. Die Nitrate wurden zur vollkommenen Trockne gebracht und $Ca(NO_3)_2$ mit Alkoholäther extrahiert, nochmals gefällt und als Oxyde titriert. Die Differenz der beiden Titrationswerte ergibt den Betrag für Sr bzw. Ba. Aluminium wurde in der stark eingeengten salzsauren Aschelösung durch Ammoniak gefällt, geglüht und als Oxyd titriert.

13. Je 4 g getrockneter Kalbsknorpel 3 Tage lang in je 40 ccm Lösung.

[1]) Lewith, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 24. 1887.

[2]) Aron, Hans, „Stützgewebe und Integumente der Wirbeltiere", Handbuch der Biochemie II, 2, S. 216. 1909.

	$MgCl_2$	$CaCl_2$	$AlCl_3$
Normalität vor dem Versuche	0,0218	0,0536	0,0396
Normalität an Cl nach dem Versuche	0,0248	0,0560	0,0612
Normalität an Kation nach dem Versuche	0,0112	0,0280	0,0014
Bindung des Kations in %	48,6	47,7	96,5

14. Wie 13.

	$MgCl_2$	$SrCl_2$	$BaCl_2$
Normalität vor dem Versuche	0,0218	0,0238	0,0240
Normalität an Kation nach dem Versuche	0,0144	0,0094	0,0062
Bindung des Kations in %	33,9	60,4	74,2

15. Wie 13.

	$MgCl_2$	$CaCl_2$	$SrCl_2$	$BaCl_2$	$AlCl_3$
Normalität vor dem Versuche	0,0604	0,0356	0,0238	0,0212	0,0396
Normalität an Cl nach dem Versuche	0,0618	0,0460	0,0424	0,0484	0,0638
Normalität an Kation nach dem Versuche	0,0352	0,0164	0,0018	0,000	0,0026
Bindung des Kations in %	41,7	53,9	92,4	100	93,4

16. Je 4 g Trockenknorpel, von Epiphysen und Rippen einer Säuglingsleiche herrührend, werden in 40 ccm Lösung 3 Tage lang eingelegt.

	$MgCl_2$	$CaCl_2$	$SrCl_2$	$BaCl_2$	$AlCl_3$
Normalität vor dem Versuche	0,0520	0,0288	0,0486	0,0632	0,0396
Normalität an Cl nach dem Versuche	0,0720	0,0554	0,0514	0,0824	0,0630
Normalität an Kation nach dem Versuche	0,0362	0,0122	0,0048	0,0066	0,0022
Bindung des Kations in %	30,4	57,6	90,1	89,5	94,5

Diese Versuche zeigen, daß alle untersuchten Kationen sowohl von Kalbs- wie von Menschenknorpel gebunden werden. In keinem Falle findet eine gleichzetige Abnahme von Cl statt, im Gegenteil stets eine mehr oder minder große Zunahme.

Aluminium erweist sich gegenüber den zweiwertigen Kationen Magnesium und Calcium in seiner Fähigkeit, gebunden zu werden, stark überlegen.

Unter den zweiwertigen Kationen werden Strontium und Barium stärker als Magnesium und Calcium gebunden. Barium wirkt noch etwas stärker als Strontium. Ob Calcium oder Magnesium die stärkere Affinität zu Knorpel hat, lassen diese Versuche nicht sicher entscheiden, da durch ein Versehen schlecht vergleichbare Konzentrationen angesetzt wurden. Wir haben diese Frage wegen ihrer großen Wichtigkeit für die Physiologie und Pathologie besonders untersucht.

Im übrigen zeigen bereits die hier vorliegenden Versuche, daß die Reihenfolge der Bindungsfähigkeit den Atomgrößen entspricht, soweit gleiche Wertigkeit besteht.

17. Je 5 g Kalbstrockenknorpel in 50 ccm Acetatmischung von p_H 6,7. Versuchsdauer 3 Tage.

	1.	2.	3.	4.
Normalität an Ca vor dem Versuche	0,0372	0,0356	0,0364	—
Normalität an Mg vor dem Versuche	—	0,0520	0,0260	0,0604
Normalität an Ca nach dem Versuche	0,0174	0,0264	0,0296	0,0064
Normalität an Mg nach dem Versuche	—	0,0352	0,0232	0,0198
Bindung von Ca in %	53,2	25,8	18,6	—
Bindung von Mg in %	—	36,1	10,7	67,3

18. Je 5 g Kalbstrockenknorpel in 50 ccm Lösung für 4 Tage eingelegt. Acetatgemische von p_H 6,7.

	1.	2.	3.	4.	5.
Normalität an Ca vor dem Versuche	0,0530	0,0530	0,0530	0,0530	
Normalität an Mg vor dem Versuche		0,0520	0,0260	0,0130	0,0520
Normalität an Ca nach dem Versuche	0,0178	0,0240	0,0392	0,0168	0,0056
Normalität an Mg nach dem Versuche	—	0,0366	0,0262	0,0104	0,0136
Bindung von Ca in % . . .	66,4	54,7	26,0	68,3	—
Bindung von Mg in % . .	—	29,2	0,0	20,0	73,8

19. Je 4 g getrockneten Knorpels von mehreren Leichen von jungen Säuglingen und Föten in 40 ccm Acetatmischung von p_H 6,7 eingelegt. Dauer 4 Tage.

	1.	2.	3.	4.
Normalität an Ca vor dem Versuche	0,0332	0,0332	0,0332	—
Normalität an Mg vor dem Versuche	—	0,0326	0,0162	0,0326
Normalität an Ca nach dem Versuche	0,0078	0,0170	0,0122	0,0070
Normalität an Mg nach dem Versuch	—	0,0262	0,0168	0,0160
Normalität an Cl nach dem Versuche	0,0396	0,0730	0,0596	0,0520
Ca-Bindung in %	76,5	48,8	63,3	—
Mg-Bindung in %	—	19,6	0,0	50,9

20. Je 5 g Kalbstrockenknorpel 3 Tage lang in 50 ccm Lösung eingelegt.

	1.	2.	3.	4.	5.	6.
Normalität an Ca vor dem Versuche	0,0188	0,0150	0,0094	—	0,0150	—
Normalität an Mg vor dem Versuche	—	0,0044	0,0110	0,0218	—	—
Normalität an Al vor dem Versuche	—	—	—	—	0,0079	0,0396

	1.	2.	3.	4.	5.	6.
Normalität an Ca nach dem Versuche	0,0104	0,0142	0,0084	0,0054	0,0134	—
Normalität an Mg nach dem Versuche	—	0,0056	0,0076	0,0156	—	—
Normalität an Al nach dem Versuche	—	—	—	—	0,00	0,0078
Ca-Bindung in %	44,7	5,6	10,7	—	10,6	—
Mg-Bindung in %	—	0,0	30,9	28,4	—	—
Al-Bindung in %	—	—	—	—	100	83,3

Was die Frage betrifft, ob Ca oder Mg stärker gebunden wird, so können die Versuche 18—20 herangezogen werden, sofern es sich darum handelt, Lösungen zu vergleichen, in denen nur eines der beiden Kationen vorhanden ist. Zweimal findet sich überlegene Ca-Bindung, einmal sind die Werte im Bereich der Fehler gleich. Man gewinnt hiernach den Eindruck, daß Ca stärker als Mg gebunden wird, wie es den obigen Ausführungen entspricht. Die Versuche 17—20 unterrichten weiter über den Ablauf der Bindungsvorgänge bei gleichzeitiger Anwesenheit von Ca und Mg. In den ersten 3 Versuchen ist die Ca-Menge konstant gehalten, während die Mg-Menge variiert wird. Deutlich nimmt beim Einführen von Mg die Kalkbindung absolut wie prozentisch berechnet ab, ohne daß Proportionalität besteht. Ebenso hemmt Überwiegen der Ca-Menge die Mg-Aufnahme durch den Knorpel. In den Versuchen 18, 19 wird bei einem Verhältnis Ca: Mg wie 2: 1 die Mg-Bindung gleich Null. Wir können in diesen Versuchen eine gegenseitige Verdrängung der beiden Kationen deutlich erkennen. Der Modus dieser Verdrängung muß allerdings kompliziert sein, denn wenn das genannte Verhältnis noch überschritten wird, wird Mg wieder gebunden. Mg wird stärker verdrängt als Ca, was der Annahme der größeren Affinität des Ca zum Knorpel völlig entspricht.

Endlich sei noch auf die starke Bindung von Al durch Knorpel hingewiesen (Versuch 20). In Gegenwart von Al sinkt die Ca-Bindung von 44,7 auf 10,6%. Das stärker bindungsfähige Kation besitzt gegenüber dem schwächer bindungsfähigen überlegene Verdrängungswirkung.

3. Bindung von Ca und Mg durch Gehirnsubstanz.

Diese Verhältnisse, die ein beträchtliches Interesse für die Pharmakologie besitzen, sind von Stransky[1]) bereits untersucht worden, der in 3 Versuchen mit kurzfristiger Versuchszeit folgende Ergebnisse erhielt:

1. 50 ccm einer rund 81 proz. Emulsion von Schweinehirn in Schweineserum binden bei einer Konzentration an Mg von 0,0218 Normalität 41,2% Mg.

2. 50 ccm einer rund 43 proz. ebensolchen Emulsion binden bei einer Mg-Normalität von 0,0357 30,4% Mg. 50 ccm einer gleichen Emulsion binden bei einer Ca-Normalität von 0,0335 57,2% Ca.

3. 50 ccm einer rund 37 proz., der vorigen entsprechenden Emulsion binden bei einer Mg-Konzentration von 0,0170 Normalität 28,4% Mg.

Es ist also erwiesen, daß Gehirnmasse sowohl Ca wie Mg zu binden vermag. Die Ca-Bindung an Gehirn in Abhängigkeit vom p_H haben wir auch in unserer ersten Mitteilung feststellen können. Diese gleichzeitige Einwirkung von Ca und Mg auf Gehirnmasse ist unseres Wissens noch nicht untersucht worden, wir haben deshalb solche Versuche angestellt.

24. 5 Proben zu feinstem Brei zerriebenen menschlichen Gehirns zu je 15 g in Acetatmischungen[2]) mit Zusatz von $CaCl_2$ und $MgCl_2$ suspendiert. p_H 6, 7. Nach 3 Tagen abfiltriert.

	1.	2.	3.	4.	5.
Normalität an Ca vor dem Versuche[3])	0,0304	0,0294	0,0282	0,0302	0,000
Normalität an Mg vor dem Versuche[3])	0,000	0,0426	0,0302	0,0108	0,0496
Normalität an Cl vor dem Versuche[3])	0,0304	0,0720	0,0584	0,0410	0,0496
Normalität an Ca nach dem Versuche	0,0228	0,0200	0,0226	0,0210	0,000
Normalität an Mg nach dem Versuche	0,0000	0,0228	0,0128	0,0060	0,0084
Normalität an Cl nach dem Versuche	0,0530	0,0804	0,0684	0,0516	0,0500
Ca-Bindung in %	25,0	32,0	19,9	30,4	—
Mg-Bindung in %	—	46,5	57,6	44,4	83,1

[1]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 78. 1915.

[2]) Die Puffergemische wurden konzentriert verwendet (0,1 n), weil wir in unseren früheren Versuchen die Erfahrung gemacht hatten, daß bei verdünnten Gemischen die Pufferung nicht ausreicht.

[3]) Unter Berücksichtigung des Wassergehaltes der Hirnmasse.

Nach diesem Versuche bindet Gehirn Magnesium stärker als Calcium. Die Kalkbindung bewegt sich in der Größenordnung unserer früheren Versuche.

Die Gegenwart von Ca hemmt die Mg-Bindung, deren Betrag auf etwa die Hälfte herabsinkt.

Es war nun von besonderem Interesse, zu wissen, ob auch solche Ca-Konzentrationen, die nicht mehr zu Ca-Bindung führen, noch die Mg-Bindung zu hemmen vermögen.

25. 3 Proben zu 15 g von frischer menschlicher Gehirnemulsion werden in 50 ccm Acetatmischung suspendiert. $p_H = 6,7$. Nach 4 Tagen abfiltriert.

	1.	2.	3.
Normalität an Ca vor dem Versuche . .	0,0236	0,0236	0,000
Normalität an Mg vor dem Versuche . .	0,000	0,0426	0,0426
Normalität an Cl vor dem Versuche . .	0,0236	0,0662	0,0426
Normalität an Ca nach dem Versuche . .	0,0218	0,0248	0,0042
Normalität an Mg nach dem Versuche . .	0,000	0,0254	0,0142
Normalität an Cl nach dem Versuche . .	0,0400	0,0840	0,0596
Ca-Bindung in %	7,6	0	0
Mg-Bindung in %	—	40,4	66,7

Es zeigt sich also, daß Ca noch in solchen Konzentrationen, in denen Kalkbindung nicht mehr sicher bewiesen werden kann, deutlich und stark die Mg-Bindung herabsetzt.

Zur Frage, welche Bedeutung diese Befunde für die Mg-Narkose haben, sei darauf hingewiesen, daß bisher keine Mg-Vermehrung im Gehirn Mg-narkotisierter Tiere bei einmaliger Injektion noch gefunden wurde [Mansfeld und Bosányi[1]), Schütz[2]), Gensler[3])], und daß auch keine Änderung der Ca-Werte im Gehirn festgestellt werden konnte. Stransky[4]) hält gleichwohl das Eindringen kleiner Mg-Mengen ins Gehirn für möglich. Wir schließen uns dieser Ansicht an und weisen darauf hin, daß die Tatsache der Hemmung der Mg-Bindung durch kleinere Ca-Mengen im Tierversuch sehr schön illustriert wird durch den Meltzerschen Aufweckungsversuch, in welchem es gelingt, Tiere durch die Hälfte einer der verwendeten Magnesiumdosis äquivalenten Ca-Menge aus der Narkose zu erwecken.

[1]) Arch. f. d. ges. Physiol. 152. 1913.
[2]) Wien. klin. Wochenschr. 1913, Nr. 19.
[3]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 78. 1915.
[4]) A. a. O.

4. Verdrängung des Natriums in Proteinverbindungen durch Ca.

Die Beobachtung, von der wir ausgingen, daß Knorpel Ca aufnimmt, ohne die Konzentration an Cl in gleichem Sinne zu verändern, wenn er in eine $CaCl_2$-Lösung eingelegt wird, erfordert eine Erklärung. Einer „Zersetzung“ des $CaCl_2$ unter Hydrolyse und apolarer Adsorption widerspricht das Verhalten der Reaktion, die sich in nicht gepufferten Lösungen stark nach der sauren Seite verschieben müßte, was nicht beobachtet wurde. Zudem bringt saure Reaktion den Prozeß der Bindung, wie wir sahen, zum Stillstand. Da der Knorpel das natriumreichste Gewebe ist, lag es nahe, daran zu denken, den Vorgang als Austauschprozeß aufzufassen in dem Sinne, daß eindiffundierende Ca-Ionen Na in den Proteinionenverbindungen verdrängen und vertreten. Wir haben uns bemüht, diesen Vorgang an einem Modell nachzuahmen und sind nach verschiedenen Versuchen in anderer Richtung zu Dialyseversuchen übergegangen. Wir haben Natriumgelatinelösungen, die aus sorgfältig gereinigter Gelatine und $^{n}/_{100}$ NaOH hergestellt waren, gegen $CaCl_2$-Lösungen dialysieren lassen und die Ca-Verteilung zu beiden Seiten der Membran bestimmt. Alkalitätsgrade, die zur Ausfällung von Calcium führen, wurden vermieden.

26. Es werden 2 Proben einer 1,628proz. Natrium-Gelatinelösung vom p_H 7,7 zu je 20 ccm in Dialysehülsen gegeben und gegen zwei verschieden konzentrierte $CaCl_2$-Lösungen zu je 60 ccm 3 · 24 Stunden lang dialysiert.

		Lösung 1 = 0,0148 n	Lösung 2 = 0,0592 n
Außenflüssigkeit nach 3 Tagen:	Ca	0,0092 n	0,0354 n
	Cl	0,0106 n	0,0430 n
Innenflüssigkeit nach 3 Tagen:	Ca	0,0118 n	0,0430 n
Bei gleichmäßiger Verteilung für jedes Ion berechnet .		0,0111 n	0,0444 n

27. 3 Proben zu 20 ccm von einer 1,628proz. Natriumgelatinelösung von p_H 10,6 werden in Dialysehülsen 3 Tage gegen je 60 ccm von verschieden konzentrierten $CaCl_2$-Lösungen dialysiert.

Normalität der Ausgangslösung	0,0148	0,0300	0,0592
Normalität der Außenflüssigkeit an Ca. .	0,0058	0,0042	0,0076
Normalität der Außenflüssigkeit an Cl . .	0,0118	0,0224	0,0450
Normalität der Innenflüssigkeit an Ca . .	0,0120	0,0214	0,0410
Bei gleichmäßiger Verteilung berechnet .	0,0111	0,0225	0,0444

28. Je 25 ccm der gleichen Lösung wie in Versuch 27 gegen 50 ccm $CaCl_2$-Lösung dialysiert. Dauer der Dialyse 3 Tage.

Normalität der Ausgangslösung . . .	0,0074	0,0148	0,0300	0,0592
Normalität der Außenflüssigkeit an Ca	0,0034	0,0070	0,0188	0,0352
Normalität der Außenflüssigkeit an Cl	0,0060	0,0112	0,0226	0,0420
Normalität der Innenflüssigkeit an Ca	0,0054	0,0130	0,0254	0,0470
Bei gleichmäßiger Verteilung berechnet	0,0056	0,0111	0,0225	0,0444

29. Anordnung wie Versuch 28.

Normalität der Ausgangslösung . . .	0,0074	0,0148	0,0300	0,0592
Normalität der Außenflüssigkeit an Ca	0,0030	0,0072	0,0154	0,0236
Normalität der Außenflüssigkeit an Cl	0,0060	0,0112	0,0222	0,0416
Normalität der Innenflüssigkeit an Ca	0,0070	0,0136	0,0314	Niederschlag
Bei gleichmäßiger Verteilung berechnet	0,0056	0,0111	0,0225	0,0444

Es wurden gleichzeitig zwei weitere Proben zur Dialyse angesetzt mit genau der gleichen Anordnung, nur daß zur Innen- wie Außenflüssigkeit ein Zusatz von Aluminiumchlorid gemacht wurde, so daß beide an Al eine Konzentration $^1/_{1000}$ mol bekamen.

Normalität der Ausgangslösung	0,0148	0,0300
Normalität der Außenflüssigkeit an Ca.	0,0092	0,0188
Normalität der Außenflüssigkeit an Cl	0,0122	0,0216
Normalität der Innenflüssigkeit an Ca	0,0108	0,0204
Bei gleichmäßiger Verteilung berechnet	0,0111	0,0225

30. Von derselben Lösung in gleicher Anordnung werden 2 Proben wie bisher, 2 unter Zusatz von $AlCl_3$ dialysiert.

	ohne Aluminium		mit Aluminium		
				$^m/_{500}$	$^m/_{200}$
Normalität d. Ausgangslösung	0,0074	0,0148	0,0074	0,0148	0,0148
Normalität der Außenflüssigkeit an Ca	0,0020	0,0074	0,0056	0,0104	0,0122
Normalität der Außenflüssigkeit an Cl.	0,0064	0,0112	—	—	—
Normalität der Innenflüssigkeit an Ca	0,0060	0,0112[1])	0,0060	0,0136	0,0126
Bei gleichmäßiger Verteilung berechnet	0,0056	0,0111	0,0056	0,0111	0,0111

Die Versuche zeigen, daß sich Ca-Ionen bei der Dialyse gegen Gelatinenatriumlösungen nicht gleichmäßig verteilen, sondern daß sich in der gelatinehaltigen Innenflüssigkeit Ca anreichert und so eine Differenz im Kalkgehalt innen und außen entsteht. Die Konzentrationen können sich bis zum Verhältnis 1:5 verschieben. Die Cl-Verteilung entspricht annähernd der Rechnung, dementsprechend ist in der Außenflüssigkeit mehr Cl als Ca. Es muß also in der Außenflüssigkeit ein anderes Kation Ca ver-

[1]) Es ist ein Niederschlag entstanden.

treten. Eine Vertretung von Ca- durch H-Ion ist in Anbetracht der Reaktionsverhältnisse ausgeschlossen. Mithin hat ein Austausch von Ca gegen Na stattgefunden. Dieser Austausch wird durch die Gegenwart eines dreiwertigen Kations (0,001 bis 0,005 mol $AlCl_3$) mehr oder minder vollständig verhindert.

Zusammenfassung.

1. Während Kalbsknorpel und Knorpel vom erwachsenen Menschen Ca aus Kalklösungen mit jedem Anion bindet, nimmt Knorpel von Säuglingen und Föten keinen oder nur wenigen Kalk aus Lösungen des Acetats und Nitrats auf. Dieser Unterschied erklärt sich aus dem verschiedenen Aufbau der Knorpelarten.

2. Ebenso wie der Knorpel Ca zu binden vermag, nimmt er auch andere zwei- und dreiwertige Kationen auf. Es besteht die Reihe: $Mg < Ca < Sr < Ba < Al$ gebunden.

3. Bei gleichzeitiger Gegenwart von Ca und Mg-Ionen nimmt der Knorpel von jeder Art weniger auf, es besteht also eine gegenseitige Verdrängung. Ca verdrängt Mg stärker, als Mg Ca verdrängt.

4. Hirn bindet Mg stärker als Ca, trotzdem kann aber Ca Mg verdrängen, selbst in relativ kleinen Mengen.

5. An Modellversuchen wird gezeigt, daß Ca Na aus der Gelatineverbindung zu verdrängen vermag, und daß Al diesen Vorgang hemmt.

Untersuchungen über das Volumen der Blutkörperchen in gegenseitig osmotischen Lösungen.

Studien über das osmotische Verhältnis der Blutkörperchen. I.

Von

Rich. Ege.

(Aus dem Physiologischen Institut der Universität Kopenhagen.)

(Eingegangen am 27. Dezember 1920.)

Mit 1 Abbildung im Text.

Die große Entwicklung, welche die kolloidchemische Forschung seit den letzten Jahrzehnten durchgemacht hat, hat in der Physiologie ihre Spuren hinterlassen.

Eine Reihe von Vorgängen, z. B. bei der Sekretion der Drüsen, die sich nicht mittels der einfachen osmotischen Kräfte erklären läßt, sucht man nun mittels der kolloidchemischen Verhältnisse zu erklären, mit welchem Erfolg, das zu entscheiden, ist eine Sache der Zukunft. Gleichfalls sucht man Erscheinungen, für welche die osmotischen Gesetze eine einfache und bisher allgemein angenommene Erklärung zu geben scheinen, durch kolloidchemische Kräfte zu erklären.

Dies gilt auch von den Volumenveränderungen der Blutkörperchen, deren Hämolyse und Permeabilitätsverhältnissen.

In gegenwärtiger Arbeit und in einer Reihe noch folgender werde ich darzulegen versuchen, inwiefern die Volumenveränderungen der Blutkörperchen sich besser nach der osmotischen oder nach der kolloidchemischen Theorie erklären lassen.

I. Nach der osmotischen Theorie sind die Blutkörperchen von einem für Wasser und einzelne andere Stoffe permeablen, für Elektrolyte, Zucker, Aminosäuren usw. impermeablen Häutchen umgeben. Das Volumen der Blutkörperchen wird bestimmt durch den osmotischen Druck der äußeren Flüssigkeit, indem ein etwaiger Unterschied der molaren Konzentration des Blutkörper-

cheninhalts und der äußeren Flüssigkeit durch eine Wasserverschiebung ausgeglichen wird.

Die Hämolyse wird erklärt durch ein Bersten des Blutkörperhäutchens infolge eines zu kräftigen Anschwellens, verursacht durch eine hypotonische äußere Flüssigkeit, so daß das Hämoglobin, das nicht imstande war, durch das Blutkörperhäutchen zu dringen, nun frei in die äußere Flüssigkeit hinausdiffundieren kann.

Das größte Verdienst um die Aufklärung der Bedeutung des osmotischen Druckes für die Volumenveränderung der Blutkörperchen sowie für die Hämolyse gebührt unzweifelhaft Hamburger und Hedin; dagegen ist es nicht korrekt, ihnen die oben dargestellte Ansicht beizulegen, wie dies fast überall geschieht. Hamburger hat 1890[1]) behauptet, daß das Blutkörperhäutchen im hohen Grade für Salze permeabel sei; wenn die Blutkörperchen dennoch hämolysieren, sobald die äußere Flüssigkeit eine ganz bestimmte Konzentration hat, oder — wie später dargetan wurde — wenn das Blutkörperchenvolumen einigermaßen dasselbe ist in isosmotischen Lösungen, so muß das ein Beweis dafür sein, daß der Austausch von Salzen, der nach Hamburger tatsächlich stattfindet, unter isosmotischen Verhältnissen vonstatten geht. Dringt eine gewisse Menge des einen Stoffes hinaus, so dringt eine damit osmotisch gleichwertige Menge eines anderen Stoffes hinein.

Dieser Austausch von Stoffen zwischen Blutkörperchen und Plasma, den Hamburger zuerst für Cl' und CO_3'' (oder tatsächlich HCO_3') nachwies, ist später von ihm als gültig für eine ganze Reihe von Anionen[2])[3]) bezeichnet worden; soweit ist es möglich, Hamburger beizustimmen. Wenn es nur Anionen sind, die diffundieren können, wird ein Austausch zwischen Plasma und Blutkörperchen nur in isoelektrischen Verhältnissen stattfinden können, was in vielen Fällen mit einem isosmotischen Austausch zusammenfallen wird. Später hat Hamburger aber — durch direkte chemische Analysen — zu zeigen gesucht, daß das Blutkörperhäutchen auch für Kationen permeabel ist. Im Gegensatz zu Abderhaldens Bestimmung der Verteilung der Kationen zwischen Blutkörperchen und Plasma fand Hamburger in den Blutkörperchen Calcium, wie er auch angibt, daß das Blutkörperhäutchen für Ca^{++}-Ionen permeabel ist[4]).

---

[1]) Die Permeabilität der roten Blutkörperchen im Zusammenhang mit den isotonischen Koeffizienten. Zeitschr. f. Biol. 1890.

[2]) Zeitchr. f. Biol. 1890; siehe außer den zitierten Spezialabhandlungen das große Werk von Hamburger: Osmotischer Druck und Ionenlehre I—III, 1902—1904.

[3]) H. und van Lier, Die Durchlässigkeit der roten Blutkörperchen für die Anionen von Natriumsalzen. Arch. f. (Anat. u.) Physiol. 1902.

[4]) Über den Durchtritt von Ca-Ionen durch die Blutkörperchen und dessen Bedingungen. Zeitschr. f. physikal. Chemie 69. 1909.

Im Gegensatz ferner zu Gürber[1]), der durch direkte chemische Analyse die Richtigkeit der allgemeinen Annahme dargetan zu haben meint, daß Blutkörperhäutchen für K^+ und Na^+ impermeabel seien, einer Auffassung, mit der die Analysen von Abderhalden und Bunge über den normalen Gehalt der Blutkörperchen und des Plasmas an K^+ und Na^+ im Einklange schienen, findet Hamburger[2]), daß K^+ und Na^+ sowohl in die Blutkörperchen ein- als aus denselben auswandern.

Hedin, dessen quantitative Untersuchungen über das Schwellen und Schrumpfen der Blutkörperchen in Salzlösungen verschiedener osmotischer Konzentration in der Regel als der beste Beweis von der Impermeabilität des Blutkörperhäutchens für Salze angeführt wird, zieht selbst fast die entgegengesetzte Schlußfolgerung. Er findet nämlich[3]), daß das Blutkörperchenvolumen in isosmotischen Salzlösungen nur identisch ist, wenn die Salzlösung außerdem mit dem Plasma isosmotisch ist, und schließt daraus, daß der Salzaustausch, der nach Hamburger stattfinden soll, nicht — wie Hamburger hervorzuheben geneigt ist — in isosmotischen Verhältnissen vonstatten gehen kann.

Soll man endlich die oben entwickelte osmotische Theorie auf einen einzelnen Forscher zurückführen, so muß es wohl auf Koeppe[4]) geschehen, der in einer Reihe von Abhandlungen folgerichtig die Auffassung als zutreffend behauptet, nach welcher das Blutkörperchen eine Art Pfefferscher Zelle darstellt — zum erstenmal 1895, unabhängig von Hedin.

Es ist noch anzuführen, daß die oben genannte Auffassung auch von Gryns unterstützt wird[5]).

II. Die kolloidchemische Auffassung stützt sich zuvörderst auf Fischer sowie auf Moore und Roaf.

Die Hauptzüge dieser Auffassung lassen sich gewiß in folgende Sätze zusammenfassen:

Das Blutkörperchen besteht aus einem Komplexsystem von Kolloiden. Falls die Blutkörperchen von einem Häutchen umgeben sind, ist dasselbe permeabel für Kristalloide (evtl. auch für Kolloide). Die Volumenveränderungen der Blutkörperchen in verschiedenen Lösungen rühren von dem Einfluß der letzteren

---

[1]) Sitzungsbericht der Physik.-med. Gesellsch. zu Würzburg **24**. 1915. (Zit. nach Hamburger.)

[2]) Hamburger und Bubanovic, La perméabilité physiologique des globules rouges, spécialement vis-à-vis des cations. Arch. internat. de physiol. **10**. 1910.

[3]) Über die Einwirkung einiger Wasserlösungen auf das Volumen der roten Blutkörperchen. Skand. Arch. f. Physiol. 1—2, **5**. 1895.

[4]) Arch. f. (Anat. u.) Physiol. 1895.

[5]) Über den Einfluß gelöster Stoffe auf die roten Blutzellen in Verbindung mit den Erscheinungen der Osmose und Diffusion. Arch. f. d. ges. Physiol. **63**. 1896.

auf die Imbibition des kolloidalen Systems (Fischer) oder von dem osmotischen Druck der Kolloide (namentlich des Hämoglobins) her (Moore und Roaf). Die Verteilung der Kristalloide zwischen Plasma und Blutkörperchen wird durch eine spezifische chemische Bindung zwischen den Kristalloiden und den Kolloiden der beiden Phasen erklärt.

Fischer, dessen Ansichten in „Oedema und Nephritis" (1915) zusammengestellt sind, stützt seine Auffassung auf zwei Gruppen von Beweisen; teils sucht er durch Literaturbelege darzutun, daß die osmotische Theorie keine befriedigende Erklärung zu geben vermag, teils hat er eine Reihe von Untersuchungen angestellt über das Schwellungsverhältnis der Kolloide (namentlich des Fibrins) in verschiedenen Lösungen und glaubt hier Gesetze zu finden, die bedeutend besser zu den Volumenveränderungen der Blutkörperchen passen als die aus der osmotischen Theorie hergeleiteten Gesetze.

Um die Unmöglichkeit der osmotischen Theorie darzutun, genügt es seiner Meinung nach, anzuführen, 1. daß nicht alle Salze und Anelektrolyten die Hämolyse zu hindern vermögen, 2. daß das Schwellen nicht gleich groß ist in isosmotischen Lösungen von Elektrolyten und Anelektrolyten, sowie 3. daß das Schwellen und das Schrumpfen nicht der Abänderung des osmotischen Druckes in der äußeren Flüssigkeit proportional sind.

Diese drei Punkte also bilden seinen Einwand gegen die osmotische Theorie. Wir wollen jeden einzelnen davon einer näheren Untersuchung unterwerfen.

Die zweite Gruppe von Beweisen zielt auf den Beweis, daß das Schwellen der Kolloide von den Elektrolyten der äußeren Flüssigkeit abhängig ist. Aber 1. das Schwellen und das Schrumpfen sind nicht identisch in isosmotischen Lösungen, 2. das Schwellen und das Schrumpfen gehen nicht der Änderung des osmotischen Druckes in der äußeren Flüssigkeit proportional vonstatten.

Diese Verhältnisse sind u. a. von Hofmeister[1]) für Gelatine und von Fischer für Fibrin nachgewiesen worden.

Auch ein flüchtiger Blick auf diese Untersuchungen genügt, um darzutun, daß eine direkte Übertragung der quantitativen Resultate in betreff des Schwellens der Gelatine und des Fibrins keineswegs durchführbar ist.

Aus Fischers Untersuchung über Fibrin lernt man, daß dieses in schwachsauren wässerigen Lösungen sehr stark anschwillt, und daß dieses Schwellen durch Salze gehemmt wird, durch die verschiedenen Salze aber in sehr verschiedenem Maße.

Gewicht des Fibrins in:

15 ccm	$^{n}/_{5}$-HCl	+ 15 ccm	H_2O	betrug	17 g
15 „	„ „	+ 15 „	$^{m}/_{2}$-KCl	„	9 g
15 „	„ „	+ 15 „	$^{m}/_{2}$-KJ	„	5 g

[1]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 27. 1890.

Im Gegensatz zu den Elektrolyten werden die Anelektrolyten nur in sehr geringem Maße das Schwellen des Fibrins hemmen.

Einen etwas anderen Standpunkt nimmt Roaf[1]) ein, indem er die Volumenveränderungen der Blutkörperchen in verschiedenen Lösungen als eine Folge des Einflusses dieser Lösungen auf den osmotischen Druck des Hämoglobins erklären will. Die Frage vom Einfluß der Elektrolyten und Anelektrolyten auf den osmotischen Druck der Kolloide ist quantitativ bei weitem noch nicht gelöst; aber so viel weiß man u. a. doch aus Lillies[2]) Untersuchungen, daß Elektrolyten und Anelektrolyten in isosmotischen Lösungen eine sehr verschiedene Wirkung auf die osmotische Konzentration der Kolloide ausüben. Es ist bei weitem nicht sicher, daß zwischen Roafs und Fischers Anschauungen ein prinzipieller Unterschied besteht; denn wie Roaf selbst bemerkt, ist das Schwellen der Kolloide wahrscheinlich eine Folge der allgemeinen osmotischen Gesetze.

Stehen der kolloidchemischen Auffassung des Blutkörperchens also große Schwierigkeiten gegenüber, was die Erklärung der Volumenveränderungen des Blutkörperchens betrifft, so sind die Schwierigkeiten, die sie bei der Erklärung der Verteilung der Kristalloide zwischen Plasma und Blutkörperchen in sich birgt, nicht geringer. Dieses Problem wird behandelt in einem Aufsatz von Moore und Roaf[3]). „Die Absicht dieser Arbeit ist," schreiben sie, „zu zeigen, daß der qualitative Unterschied zwischen den Elektrolyten der Zelle und der Umgebungen nicht von dem Vorhandensein einer impermeablen Membran, sondern von einer spezifischen Affinität zwischen dem Zellenprotoplasma und gewissen Elektrolyten oder Ionen herrührt, wodurch eine chemische Verbindung oder eine Adsorptionsverbindung entsteht, und daß, was das quantitative Verhältnis betrifft, zwischen den Elektrolyten der Zelle und der Umgebungen ein Gleichgewicht besteht. Dieses Gleichgewicht braucht nicht notwendigerweise eine Identität oder Isotonie zu bedeuten, was den totalen osmotischen Druck betrifft, sondern wird praktisch gesprochen stets in einigem Maße von einer solchen Identität abweichen."

Als Unterstützung dieser Annahme führen Moore und Roaf die Verteilung des Sauerstoffes zwischen Plasma und Blutkörperchen an. Wir haben hier ein Tensionsgleichgewicht zwischen dem Sauerstoff in den beiden Phasen vor uns, und dennoch ist die Sauerstoffmenge in den Blutkörperchen (wegen der spezifischen Bindung an das Hämoglobin) sehr groß, im Plasma aber sehr gering, so gering, daß nur infolge der überaus feinen volumetrischen Methode zur Bestimmung des Sauerstoffes überhaupt der Nach-

[1]) The relation of proteins to crystalloids. I The osmotic pressure of haemoglobin and the laking of red blood corpuscles. Quarterly journ. of experim. physiol. 3. 1910.

[2]) The influence of electrolytes and certain other conditions on the osmotic pressure of colloidal solutions. Amer. journ. of physiol. 20. 1907/08.

[3]) On the equilibrium between the cell and its environments in regard to soluble constituence with special reference to the osmotic equilibrium of the red blood corpuscels. Biochem. journ. 3. 1908.

weis möglich war, daß das Plasma O_2 enthielt. Ganz in derselben Weise verhält es sich nach Moore und Roaf mit der Verteilung des Kaliums. Die Kaliumtension ist in den beiden Phasen gleich groß, die Kaliummenge in den Blutkörperchen aber infolge einer spezifischen Bindung zwischen dem Kalium und den Kolloiden des Blutkörperchens viel größer.

Die Analogie mag recht verführend aussehen, man muß sich aber erinnern, daß es erstens nur eine Behauptung ist, daß zwischen dem Kalium und den Kolloiden des Blutkörperchens eine spezifische Bindung besteht, während eine solche für das Natrium nicht bestehen soll; zweitens lassen die Volumenveränderungen des Blutkörperchens in Lösungen von Kaliumsalzen sich nur schwer erklären, ohne daß man annimmt, daß das Blutkörperchen von einem Häutchen umgeben ist, durch welches das Kaliumion nicht zu dringen vermag; drittens scheint die Kaliumtension in Blutkörperchen und Plasma nicht identisch zu sein, wofür man in der Giftwirkung des hämolysierten Blutes auf das Herz einen Beweis hat; diese Giftwirkung scheint einfach eine Wirkung des Kaliumions zu sein. Ist dies richtig, so zeigen die Versuche, daß die Kaliumionentension in dem Blutkörpercheninhalt viel größer sein muß als im Plasma. Viertens zeigen eine Reihe von Versuchen (darüber später), daß das Volumen der dispersen Phase des Blutkörperchens unter 50% beträgt — über 50% vom Blutkörperchen sind Wasser — wobei, wohl zu bemerken, von der disponiblen Wassermenge die Rede ist. Im Plasma muß die disponible Wassermenge zwischen 90 und 95% betragen; darin ist eine NaCl-Lösung aufgelöst, deren osmotische Spannung zwischen 0,6 und 0,8% NaCl betragen muß. Wir können uns daher unmöglich vorstellen, daß die Na-Ionenkonzentration im Blutkörperchen so klein sein sollte, daß sie sich überhaupt nicht chemisch nachweisen ließe, es sei denn, daß das Blutkörperchen von einer Membran umgeben ist, durch welche Na^+ nicht diffundieren kann.

Nachdem Donnan[1]) gezeigt hat, daß der Diffusionsausgleich zwischen zwei einfachen Wasserphasen, die durch eine Membran der für einige der Ionen der beiden Phasen permeable, für andere impermeable ist, voneinander getrennt sind, nicht notwendig zu bewirken brauchen, daß die diffusiblen Ionen durch die Membrane wandern, bis die Konzentration zu beiden Seiten der Membran, hinsichtlich der diffusiblen Ionen, identisch ist, so muß die Elektrolytenverteilung zwischen Plasma und Blutkörperchen einer neuen und gründlichen Untersuchung unterworfen werden.

Welche Bedeutung die Donnansche Theorie für dieses Problem erhalten wird, ist außerordentlich schwer zu überblicken; so viel scheint aber doch sicher zu sein, daß die Donnansche Theorie nicht die eigentümliche Verteilung von positiven Ionen (K^+, Na^+, Ca^{++}) zwischen Blutkörperchen und Plasma zu erklären vermag, wenn das Blutkörperhäutchen für diese permeabel ist.

Ich meine daher, daß man berechtigt ist, zu behaupten, daß die Versuche, welche bisher angestellt worden sind, um das obengenannte Verhältnis ausschließlich von kolloidchemischen Ge-

[1]) Zeitschr. f. Elektrochemie 1911.

sichtspunkten aus zu erklären, als verfehlt zu betrachten sind, wenn man andererseits auch darauf vorbereitet sein muß, betreffs der Volumenveränderungen des Blutkörperchens und vielleicht namentlich hinsichtlich seiner Hämolyse auf Verhältnisse zu stoßen, die sich nur erklären lassen, wenn man zur Kolloidchemie seine Zuflucht nimmt, ein Verhältnis, das als ganz natürlich zu betrachten ist, da wir es hier mit einem System zu tun haben, in dem Kolloide rein quantitativ eine sehr wesentliche Rolle spielen. Ich will nur behaupten, daß die Kolloidchemie nicht vermocht hat, die osmotische Membrantheorie zu verdrängen; dies ist aber natürlicherweise andererseits kein Beweis, daß diese Theorie richtig ist, und es wird daher unsere Aufgabe sein, zu untersuchen, ob die osmotische Theorie die Volumenveränderungen der Blutkörperchen zu erklären vermag, oder ob auch diese Theorie bei näherer Untersuchung versagt.

Einer von den wesentlichsten Einwänden, der sich gegen die Auffassung erheben läßt, nach der das Volumen des Blutkörperchens von dem osmotischen Druck der äußeren Flüssigkeit bestimmt werden sollte und nach der Schwankungen in derselben Änderungen des Blutkörperchenvolumens bewirken, ist das von Hedin[1]) studierte Verhältnis, daß gegenseitig isosmotische Lösungen nicht immer dasselbe Blutkörperchenvolumen[2]) ergeben. Die Lösungen, für welche Hedin namentlich dieses Verhältnis studiert hat, sind Na- oder K-, Cl- und NO_3-Lösungen. Hedin findet in einer sehr großen Anzahl von Versuchen, daß das Blutkörperchenvolumen in einer hypotonischen Na-Cl-Lösung stets größer ist als in einer damit isosmotischen KNO_3-Lösung, während in hypertonischen Lösungen das Umgekehrte der Fall ist; gegenseitig isosmotische Lösungen ergeben nur dasselbe Blutkörperchenvolumen, falls sie auch mit dem Plasma isosmotisch sind.

Die neueste und eingehendste Erklärung dieser wenig beachteten Erscheinung finden wir bei Hedin in seinen Grundzügen der physikalischen Chemie in der Beziehung zur Biologie, 1915,

---

[1]) Skand. Arch. 1895.

[2]) Hier wird nicht an das wohlbekannte Verhältnis gedacht, daß die Blutkörperchen in Glycerin und einzelnen anderen Lösungen anschwellen, um schließlich zu bersten; denn hier ist eine leichte und in vielen Fällen sichere Erklärung der Erscheinung gegeben worden, indem man behauptet, daß das Blutkörperhäutchen für diese Stoffe permeabel ist.

worauf ich hier verweise, indem ich jedoch darauf aufmerksam machen will, daß die Erklärung sehr unwahrscheinlich ist.

Im Gegensatz zu Hedin — aber unabhängig von ihm — behauptete Koeppe[1]), daß das Blutkörperchenvolumen tatsächlich in isosmotischen Lösungen identisch ist, welche Konzentration diese auch haben mögen.

Bevor man zu der Frage, ob Koeppe oder Hedin recht hat, Stellung nehmen kann, muß man neue Versuche anstellen. Um Fehlschlüsse zu vermeiden, muß man auf folgende Verhältnisse Rücksicht nehmen: 1. die Gefrierpunktsdepressionen der benutzten Lösungen müssen kontrolliert werden. 2. Bei den Volumenbestimmungen muß man statt Hedins und Koeppes Hämatokritröhren Hamburgers Conohämatokritröhren benutzen; hier, wo man eine ganz geringe Menge Blut mit 40 mal soviel Salzlösung zusammenmischt, wird die osmotische Konzentration der äußeren Flüssigkeit sicher praktisch gesprochen vom Blutzusatz unberührt bleiben. 3. Schließlich dürfte vielleicht hervorzuheben sein, daß die Zahlen, welche Hedin und Koeppe für das Blutkörperchenvolumen anführen, nicht die absoluten Werte, sondern — wie sie auch selbst hervorheben — nur relative Werte darstellen, da die Zentrifugierung nicht genügend lange fortgesetzt wurde; auch dieses Verhältnis muß zu Fehlern Veranlassung haben geben können.

Die Bestimmungen fanden statt mit folgenden Lösungen:

	Δ		Δ
NaCl	1,736	KNO_3	1,489
„	0,950	„	0,837
„	0,746	„	0,703
„	0,608	„	0,579
„	0,473	„	0,460
„	0,377	„	0,368
„	0,320	„	0,310

Die Blutkörpervolumenbestimmungen fanden statt in einer Hamburgerschen Conohämatokritröhre; die Capillarröhre, die in Hundertstel geteilt ist, ist etwa 50 mm lang und faßt etwa 0,04 ccm[2]), der Trichter faßt etwa 3 ccm.

[1]) Arch. f. Anat. u. Physiol. 1895.

[2]) Es ist absolut notwendig, die Röhren zu kalibrieren, da weder die originalen Hamburgerschen Röhren noch Nachahmungen von Jacob ganz genau waren.

In dem Trichter werden 2,0 ccm der Salzlösung abpipettiert, deren Einfluß auf das Blutkörperchenvolumen bestimmt werden soll; mittels einer sehr feinen Capillarpipette, die 0,04 ccm faßt, wird das Blut (oder die Blutkörperchenaufschwemmung) abgemessen und in den Trichter mit den 2 ccm Salzlösung hinausgeblasen; nach Abspülung der Pipette werden die Blutkörperchen mit einem feinen Glasstab in der Salzlösung verteilt, wonach die Blutkörperchen sofort abzentrifugiert werden. Bei den ältesten Versuchen wurde in einer kleinen elektrischen Zentrifuge mit einer Rotationsgeschwindigkeit von etwa 3000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert, später in einer besonderen Hämatokritzentrifuge mit einer Umlaufsgeschwindigkeit von etwa 7000 Umdrehungen.

Selbst in der langsam laufenden Zentrifuge wird nach 15 Minuten eine einigermaßen vollständige Trennung von Blutkörperchen und Plasma stattgefunden haben, in der schnell laufenden nach ein paar Minuten. Diese Angaben gelten jedoch nur in gewissen Fällen, indem die Zeit, welche von der Trennung von Blutkörperchen und Plasma beansprucht wird, ganz außerordentlich verschieden ist. Teils haben wir es mit einer Artverschiedenheit zu tun — Kaninchenblut wird sehr schnell und leicht getrennt, weshalb ich dieses vorzugsweise verwendet habe; Rinder- und Ziegenblut, das ich auch mehrfach bei meiner Arbeit benutzt habe, beansprucht bedeutend mehr Zeit, um abzentrifugiert zu werden — teils hängt die Dauer von der augenblicklichen Form des Blutkörperchens ab: stechapfelförmige Blutkörperchen lassen sich sehr schwer, geschwollene Blutkörperchen dagegen sehr leicht quantitativ abzentrifugieren.

Bei einer Reihe von Doppelbestimmungen zeigte es sich, daß die durchschnittliche Abweichung 0,5% des Wertes betrug, der mittlere Fehler der einzelnen Bestimmung betrug $\pm$ 0,75%. In den folgenden Tabellen ist das Blutkörperchenvolumen in einer bestimmten Lösung zu 100 gesetzt, die anderen Ausdrücke im Verhältnis dazu.

NaCl Δ	Vol.	KNO_3 Δ	Vol.
0,950	84	0,837	83,09
0,608	100	0,579	101,3
0,473	117,6	0,460	117,0
	Hämolyse		Hämolyse

Ich verfüge über eine sehr große Anzahl derartiger Versuche, die alle dasselbe Resultat ergaben. Die Zahlen lassen sich nicht direkt miteinander vergleichen; denn wenn auch äquimolekulare Lösungen von NaCl und KNO_3 angewandt worden sind, sind die Lösungen nicht unter sich isosmotisch.

Der Unterschied, den isosmotische Lösungen von NaCl und KNO_3 im Blutkörperchenvolumen hervorrufen, muß daher berechnet werden. Die Berechnung geschieht durch einfache Interpolation. Berechnet man nun das Blutkörperchenvolumen in NaCl-Lösungen, die den angewandten KNO_3-Lösungen isosmotisch sind, erhält man folgende Werte:

KNO_3 Δ	I Vol. in KNO_3	II Vol. in damit isosmotischen NaCl	Differenz II ÷ I
0,837	83,9	89	5,1
0,579	101,3	103,5	2,2
0,460	117,0	120,0	3,0
0,368	132,0	137,0	5,0

Ganz entsprechende Verhältnisse fanden sich bei isosmotischen Lösungen von KCl und KNO_3, wogegen isosmotische Lösungen von KCl und NaCl dasselbe Blutkörperchenvolumen ergaben; als Durchschnittswerte von 2 übereinstimmenden Versuchen fand ich nämlich für isosmotische NaCl- und KCl-Lösungen:

	NaCl	KCl
$^1/_6$ m	100,0	100,4
$^1/_8$ m	117,9	117,7
$^1/_{10}$ m	133,7	134,2

Der Unterschied der ersten Versuche muß daher mit dem verschiedenen Anion in Verbindung stehen, während das Kation für dieses Verhältnis ohne Belang ist.

Der Unterschied des Blutkörperchenvolumens in isosmotischen Lösungen von KNO_3 und NaCl in den obengenannten Versuchen ist nicht groß, namentlich in Vergleich mit den Fehlern, womit die Hämatokritmethode arbeitet. Daß der Unterschied tatsächlich ein tatsächlicher ist, läßt sich erst durch eine Reihe von Versuchen feststellen; solche Versuche sind angestellt worden, und sie ergaben alle, daß das Blutkörperchenvolumen größer war in Cl-Lösungen als in den damit isosmotischen NO_3-Lösungen. So ergaben sich als Mittel von 6 Bestimmungen mit

jeder Flüssigkeit folgende Werte des Blutkörperchenvolumens in NaCl- und KNO_3-Lösungen.

NaCl		KNO	
Δ	Vol.	Δ	Vol.
0,608	100,0	0,579	98,1
0,473	117,9	0,460	114,2
0,377	135,6	0,368	134,0

Durch graphische Interpolation kann man das Volumen ablesen, das die den KNO_3-Lösungen entsprechenden isosmotischen NaCl-Lösungen hervorrufen werden. Diese Werte finden sich in der folgenden Tabelle:

osm. Konz.	Vol. in KNO_3	Vol. in NaCl	Diff. in Proz.
Δ = 0,579	98,1	103,8	5,8
= 0,460	114,0	120	5,3
= 0,368	134,0	137,2	2,4

Betreffs der fundamentalen Frage, inwiefern isosmotische Lösungen von Salzen mit monovalentem Anion denselben Einfluß auf das Blutkörperchenvolumen ausüben oder nicht, stimmen meine Versuche mit denen von Hedin überein, jedoch mit dem wesentlichen Unterschiede, daß meinem Befunde nach, wenn ein Salz (z. B. KNO_3) ein kleineres Blutkörperchenvolumen ergibt als das damit isosmotische, z. B. KCl, dies von allen Lösungen, hypotonischen, isotonischen und hypertonischen gilt, ein Verhältnis, durch welches die Erscheinung doch vielleicht verständlicher wird.

Die brennende Frage ist nun: Worauf beruht diese Erscheinung, ist sie vernichtend für die osmotische Theorie als Erklärung des Blutkörperchenvolumens, oder vermögen wir diese Abweichung in befriedigender Weise zu erklären?

Man hat nun zu beachten, daß sowohl Hedins als meine eigenen Untersuchungen unter der mehr oder minder stillschweigenden Annahme ausgeführt worden sind, daß das Blutkörperchen in einer Elektrolytenlösung sofort ein bestimmtes Volumen annehme und daß es sich dann unverändert erhalten werde, bis das Blutkörperchen spontan hämolysiere.

Diese stillschweigende Annahme ist, wie die folgenden Versuche zeigen werden, nicht richtig.

Bevor es sich lohnt, die Ursache des Unterschieds zu erörtern, den isosmotische Lösungen von z. B. NaCl und KNO_3 auf

das Blutkörperchenvolumen ausüben, müssen wir die Änderungen studieren, welche die Blutkörperchenvolumina von dem Augenblick an durchmachen, wo sie in der Salzlösung aufgeschwemmt werden, bis sie infolge der spontanen Hämolyse hämolysieren.

Um dieses zu untersuchen, habe ich in der Regel 1 ccm Blut abgemessen und mit 40 ccm Salzlösung vermischt; von dem Vermischungsaugenblick an wurde die Lösung ganz schwach in einem Schüttelapparat geschüttelt, so daß die Blutkörperchen die ganze Zeit hindurch in der Flüssigkeit aufgeschwemmt waren und fortwährend mit neuen Flüssigkeitsteilen in Verbindung kamen. Dann und wann wurden 2,00 ccm in dem Conohämatokrit abgemessen. Die Zentrifugierung geschah so schnell wie möglich in der schnellaufenden Zentrifuge.

Versuch 1: Kaninchenblut (Oxalat): 1 ccm Blut + 40 ccm $^1/_8$ m-NaCl.

Setzt man das Blutkörperchen unmittelbar nach der Vermischung = 100 — in diesem Falle begann die Zentrifugierung 4 Min. nach der Vermischung, und bereits 9 Min. danach enthielt die Blutkörperchenmasse nur 1,0% Plasma — so erhält man folgende relative Werte des Blutkörperchenvolumens. Die Zeit wird bis zum Beginn der Zentrifugierung berechnet.

4 Minuten	= 100	299 Minuten	= 103,6
43 „	= 107,8	371 „	= 102,3
74 „	= 110,5	29 Stunden	= 99,0
93 „	= 109,0	53 „	= 98,4
188 „	= 107,2		

Dieser Versuch zeigt, daß das Blutkörperchenvolumen nicht konstant ist, sondern systematischen Schwankungen unterliegt. Am bemerkenswertesten ist, daß die Blutkörperchen recht bedeutend und recht schnell unmittelbar nach der Vermischung anschwellen, so daß das Volumen nach 1—2 Stunden um etwa 10% größer ist; darauf tritt ein ganz langsames Schrumpfen ein, so daß die Blutkörperchen nach etwa 24 Stunden wieder das Volumen einnehmen, das sie sofort nach der Vermischung aufwiesen; nach 48 Stunden steht man in Verhältnis zu der ersten Bestimmung einem Schrumpfen gegenüber.

Die Auffindung der Ursache dieses langsamen Schrumpfens, das auf die recht schnelle Anschwellung folgt, ist mir nicht gelungen; nur soviel läßt sich sagen, daß sie weder von einer Hämolyse noch von einer zunehmenden Konzentration der Salzlösung infolge eines etwaigen Verdampfens herrührt. Dagegen meine ich,

daß das schnelle Anschwellen sich in wahrscheinlicher Weise erklären läßt.

Es gibt wohl kaum eine Literatur, die so voll von abweichenden Meinungen und Versuchen ist wie diejenige, die die Frage von den Permeabilitätsverhältnissen des Blutkörperhäutchens behandelt; trotzdem glaube ich, daß man behaupten darf, daß einigermaßen darüber Einigkeit herrscht, daß das Blutkörperchenhäutchen für gewisse Anionen, z. B. $Cl^{\div}$ und $HCO_3^{\div}$[1]), permeabel ist; für andere Anionen ist die Frage bedeutend zweifelhafter[2]). Doch glaube ich, daß man u. a. aus einer Reihe von Versuchen, die ich angestellt habe und die später besprochen werden sollen, schließen kann, daß die meisten Anionen, deren Ionenzahlen kleiner sind als etwa 100, mit einer Geschwindigkeit, die teilweise von der Ionenzahl abhängig zu sein scheint, durch das Blutkörperchenhäutchen zu diffundieren vermag. Das Sulfation (Ionenzahl 96) dringt allerdings außerordentlich langsam in das Blutkörperchen hinein, während das Tartrat- und das Citration gar nicht hineindringt, wogegen $Cl^{\div}$, $CO_3^{\div\div}$, $Br^{\div}$, $NO_3^{\div}$, $HPO_4^{\div\div}$, $(COO)_2^{\div\div}$ alle schneller eindringen, wenn auch mit recht verschiedener Geschwindigkeit.

Ich nehme daher an, daß das Nachschwellen — ich benutze diesen Ausdruck, um eine Verwechslung mit dem Schwellen zu vermeiden, das momentan eintritt, wenn die Blutkörperchen aus einer isotonischen in eine hypotonische Lösung gebracht werden — von einem Ausgleich der diffusibeln Anionen bis zum Gleichgewicht herrührt, ein Gleichgewicht, das natürlicherweise nicht eine Identität zu sein braucht und sicherlich kaum eine solche ist.

Was vor sich geht, läßt sich vielleicht am besten durch folgende Schemata veranschaulichen.

I.

	Blutkörperchen		Plasma
	$Cl^{\div}$		$Cl^{\div}$
M_b^{+}	$HCO_3^{\div}$	M_p^{+}	$HCO_3^{\div}$
	$H_2PO_4^{\div}$		$H_2PO_4^{\div}$
	$HPO_4^{\div\div}$		$HPO_4^{\div\div}$
	$SO_4^{\div\div}$		$SO_4^{\div\div}$
	$S_b^{\div}$		$S_p^{\div}$

[1]) Siehe u. a. Hamburger, Osm. Druck usw.

[2]) Für $J^{\div}$ muß das Blutkörperchenhäutchen nach Buchholtz (Inaug.-Diss. Kopenhagen 1915) permeabel sein.

Die Ionen der Blutkörperchenphase und der Plasmaphase werden bzw. durch *b* und *p* markiert.

M^+ bedeutet positives indiffusibles Ion.

$S^{\div}$ bedeutet negatives indiffusibles Ion.

Die meisten negativen Ionen sind diffusibel im Gegensatz zu den positiven, die insgesamt oder fast insgesamt indiffusibel sind.

Wenn die Blutkörperchen sich in dem Plasma finden, muß zwischen den diffusiblen Anionen des Plasmas und der Blutkörperchen Gleichgewicht bestehen. Wenn wir auch dies Gleichgewicht und die Gesetze desselben noch bei weitem nicht kennen, so ist doch gegeben, daß dasselbe gestört werden muß, wenn die Blutkörperchen aus dem Plasma in eine NaCl-Lösung (z. B. 1,0 molar) hinübergebracht werden.

II.

	Blutkörperchen	Äußere Flüssigkeit	
	$Cl_b^{\div}$		
M_b^+	$HCO_{3b}^{\div}$	Na^+	$Cl^{\div}$
	$H_2PO_{4b}^{\div}$		
	$HPO_{4b}^{\div\div\div}$		
	$SO_{4b}^{\div\div}$		
	$S_b^{\div}$		

Vergleichen wir I. mit II., so ist es klar, daß für die Anionen in II. kein Diffusionsgleichgewicht bestehen kann, $[Cl^{\div}]$ ist am größten in der äußeren Flüssigkeit, die Konzentration der übrigen Ionen ist am größten im Blutkörperchen; es wird daher ein Ausgleich stattfinden, der notwendigerweise in isoelektrischen Verhältnissen stattfinden muß[1]).

Da der Blutkörpercheninhalt keine nennenswerten Mengen von Kationen enthält, die durch das Häutchen einzudringen vermögen, kann der Ausgleich nur zwischen den negativen Ionen vonstatten gehen.

Ein Ersatz von $Cl^{\div}$ durch die übrigen monovalenten Anionen wird die osmotische Konzentration der Systeme nicht verändern, finden sich aber di- oder trivalente diffusible Anionen in dem Blutkörperchen, muß zugleich eine Vertauschung zwischen bzw. 2 und 3 $Cl^{\div}$ und einem di- oder trivalenten Anion stattfinden; da nun ein $Cl^{\div}$ und ein $HPO_4^{\div\div}$ dieselbe osmotische Wirkung haben, wird eine solche Vertauschung eine Steigerung der osmo-

[1]) Ostwald, Arch. f. physik. Chemie 1890.

tischen Konzentration des Blutkörperchens bewirken, die wiederum durch Eindiffusion von Wasser ausgeglichen werden wird. Das Blutkörperchen muß also anschwellen.

Man könnte sich nun denken, daß dieses Schwellen schneller in einer Cl-Lösung als in einer NO_3-Lösung vonstatten ginge, so daß wir hier eine Erklärung der Differenz zwischen dem Blutkörperchenvolumen in isosmotischen Chlorid- und Nitratlösungen vor uns hätten. Wenn dies der Fall ist, kann der Unterschied sich weder in den Bestimmungen finden, die unmittelbar nach der Vermischung der Blutkörperchen und der Salzlösung stattfanden, noch in denen, worin die Bestimmung erst nach dem Eintritt des Gleichgewichts stattfand. Da die Bestimmung sich nicht unmittelbar nach der Vermischung ausführen läßt, stellte ich folgenden Versuch mit einer etwa $^1/_8$ m-KCl- und $^1/_8$ m-KNO_3-Lösung an.

$$KCl \quad \Delta = 0{,}452$$
$$KNO_3 \quad ,, = 0{,}450$$

Kaninchenblut (Oxalat). Setzen wir das Blutkörperchenvolumen in der ersten Bestimmung in der KNO_3-Lösung = 100, erhalten wir folgende relative Werte:

$^1/_8$ KNO_3 $\Delta = 0{,}450$		$^1/_6$ m KCl $\Delta = 0{,}452$	
7 Min. nach der Vermischung	100	5 Min. nach der Vermischung	106,0
30 ,, ,, ,, ,,	104,3	56 ,, ,, ,, ,,	109,6
224 ,, ,, ,, ,,	109,6	120 ,, ,, ,, ,,	108,9
360 ,, ,, ,, ,,	109,1	320 ,, ,, ,, ,,	108,8

Der Versuch zeigt, daß das Volumen der Blutkörperchen gewöhnlich größer (hier um 6%) ist in einer Cl-Lösung als in einer damit isosmotischen NO_3-Lösung, wenn die Bestimmung kurz nach der Vermischung stattfindet; während aber das Nachschwellen in der Cl-Lösung nur 3,6% betrug (das weniger ausgeprägte Nachschwellen rührt von dem Umstand her, daß die Zentrifugierung mit der langsamen Zentrifuge erfolgte, so daß man annehmen muß, daß ein wesentlicher Teil des Schwellens stattgefunden hat, bevor man die erste Bestimmung erhalten hatte), belief es sich in der KNO_3-Lösung auf 9,6%, wodurch das maximale Volumen identisch wurde.

Der Unterschied, den man für das Blutkörperchenvolumen findet, muß daher folgenderweise erklärt werden: sobald die Blutkörperchen aus dem Plasma in eine Salzlösung einer monovalenten Säure hinübergebracht werden, fangen sie zu schwellen an; da dieses Schwellen, von dem Anion abhängig, mit verschiedener

Geschwindigkeit vonstatten geht, wird man nicht dasselbe Blutkörperchenvolumen erhalten, bevor das Nachschwellen beendet und aufs neue ein Anionengleichgewicht zwischen den beiden Phasen erzielt worden ist. Sobald das Gleichgewicht eingetreten ist, muß das Blutkörperchen dasselbe Volumen haben, wenn die Lösungen tatsächlich isosmotisch sind, was auch der Fall war.

Wenn diese Erklärung richtig ist, muß das Blutkörperchenvolumen sofort identisch sein und das Schwellen ausbleiben, wenn man die Auswechslung zwischen mono- und divalenten Anionen verhindern kann, was durch ein Auswaschen der diffusiblen divalenten Anionen im voraus durch wiederholte Behandlung mit einer $^1/_6$ m-NaCl-Lösung erzielt werden kann.

Die gewaschenen Blutkörperchen ergaben dann ganz identische Volumina in isosmotischen KCl- und KNO_3-Lösungen, wie das gewöhnliche Anschwellen auch ausblieb.

Ein anderes Verfahren zur Bestätigung der aufgestellten Erklärung beruht auf einer Untersuchung über das Verhalten der Blutkörperchen in einer elektrolytenfreien Lösung; enthält die äußere Flüssigkeit keine Anionen, so wird der Anionenaustausch natürlicherweise nicht stattfinden können, die Blutkörperchen müssen sogleich das endgültige Volumen annehmen, und das Nachschwellen muß ausbleiben.

Versuch 2. Kaninchenblut mit Zusatz von 10 Vol. 8 proz. Rohrzucker vermischt und sodann so schnell wie möglich abzentrifugiert; der in der Weise gewaschene Blutkörperchenbrei wurde in 60 Vol. 8 proz. Rohrzucker aufgeschwemmt. Das Blutkörperchenvolumen betrug dann:

5 Min. nach der Vermischung	100
45 „ „ „ „	100
105 „ „ „ „	99,1
210 „ „ „ „	100,2

Das Schwellen bleibt also ganz aus, was wiederum als ein Beweis dafür betrachtet werden kann, daß die Ursache des Schwellens in der Anionenauswechslung zu suchen ist.

Auch in den Glucoselösungen trifft man nicht das in den Chlorid- und Nitratlösungen vorkommende Schwellen an.

Kaninchenblut (Oxalat). 1 ccm Blut zu 40 ccm 6 proz. Glucose.

	Blutkörperchenvol.
5 Min. nach der Vermischung	100
$^1/_2$ Stunde später	99
$2^1/_2$ Stunden später	101
6 Stunden später	100
24 „ „	95,2

Das sekundäre Schrumpfen kann dagegen auch in diesen Lösungen vorkommen.

Wie in einem späteren Aufsatze über die Anionenpermeabilität dargetan werden wird, meine ich, daß man davon ausgehen kann, daß das Blutkörperhäutchen tatsächlich für eine große Anzahl Anionen permeabel ist; da man wohl auch annehmen darf, daß die Blutkörperchen divalente diffusible Anionen enthalten, ist somit gegeben, daß die Blutkörperchen in einer dem Plasma isosmotischen Lösung eines Salzes einer monovalenten Säure schwellen müssen. Es fragt sich nur, ob die Anionenauswechslung und das daraus folgende Schwellen so langsam vonstatten gehen, daß wir letzteres messen können oder so schnell, daß der Ausgleich und das Schwellen beendigt sind, lange bevor wir die erste Volumenbestimmung bewerkstelligen können.

Hamburger, der sich in einer sehr großen Anzahl von Aufsätzen mit einem Ausgleich von $Cl^{\div}$ und $CO_3^{\div\div}$ beschäftigt, behauptet, daß er, praktisch gesprochen, momentan verläuft, indem er in kürzerer Zeit vollführt wird, als das Blut zur Passage das Capillarsystem erfordert.

Dies ist indessen nicht der Fall; die Geschwindigkeit, mit der eine Reihe von Anionen durch das Blutkörperhäutchen dringt, ist gering.

Alles scheint somit darauf hinzudeuten, daß das Nachschwellen tatsächlich von der Anionenauswechslung herrührt und daß wir in derselben die Ursache des sowohl von Hedin wie von mir beobachteten Verhältnisses suchen müssen, gemäß dem das Blutkörperchenvolumen in isosmotischen Chlorid- und Nitratlösungen nicht identisch ist, indem das Volumen nach meinen Untersuchungen in ersteren am größten war. Dies gilt indessen nur während der ersten Zeit nach dem Aufschwemmen der Blutkörperchen in den verschiedenen Flüssigkeiten und muß somit wahrscheinlich von dem Umstand herrühren, daß das Nachschwellen in den Chloridlösungen am schnellsten vor sich geht. Um sich aber durch diese Hypothese befriedigt zu fühlen, ist es natürlicherweise notwendig, eine genügende Erklärung des Unterschiedes der Schwellungsgeschwindigkeit geben zu können.

Die Erklärung liegt auf der Hand; denn wie wir später sehen werden, diffundiert $Cl^{\div}$ mit bedeutend größerer Geschwindigkeit durch das Blutkörperhäutchen als $NO_3^{\div}$; und die Geschwindig-

keit, mit der die Ausgleichung geschieht, muß von der Wanderungsgeschwindigkeit der Ionen sowohl der äußeren wie der inneren Flüssigkeit abhängig sein. Es ist allerdings richtig, daß $Cl^{\div}$ die äußere Flüssigkeit nicht in meßbaren Mengen verlassen kann, obgleich die Membran für $Cl^{\div}$ permeabel ist, und daß $Cl^{\div}$ von der äußeren Flüssigkeit bis zur inneren Flüssigkeit einen Spannungsfall aufweist, bevor eine äquivalente Menge der mono-, di- oder trivalenten Ionen des Blutkörpercheninhalts den entgegengesetzten Weg zurückgelegt hat; dies wird aber nicht hindern, daß eine unendlich geringe Menge $Cl^{\div}$ aus der äußeren Flüssigkeit in die innere hinüberwandert, ohne durch eine äquivalente Menge von Anionen aus der inneren Flüssigkeit ersetzt zu werden; es werden nämlich so große oder vielmehr so geringe Mengen $Cl^{\div}$ in das Blutkörperchen eindringen, daß das elektrische Potential, das dadurch entsteht, die Ionen mit einer Kraft anziehen wird, die der Kraft gleich ist, mit welcher die Ionen infolge der Tensionsdifferenz aus der äußeren Flüssigkeit in den Blutkörpercheninhalt zu diffundieren suchen werden. Das sich ergebende elektrische Potential wird aber natürlicherweise nicht nur die negativen Ionen anziehen, welche die äußere Flüssigkeit eben verlassen haben, sondern ebensowohl die ursprünglichen Ionen des Blutkörpercheninhalts. Da nun das elektrische Potential um soviel größer sein muß, je größer die Neigung der Ionen der äußeren Flüssigkeit ist, dieselbe zu verlassen, und da diese Neigung wiederum sowohl von der Tensionsdifferenz als der Wanderungsgeschwindigkeit des betreffenden Ions abhängig sein muß, so folgt daraus, daß die Geschwindigkeit, mit der die Anionen der inneren Flüssigkeit hinausdiffundieren werden, um soviel größer sein muß, je größer die Permeabilitätsgeschwindigkeit des Anions der äußeren Flüssigkeit ist. Legt man den Permeabilitätsverhältnissen die Porentheorie zugrunde, so ist im übrigen wohl unmittelbar einleuchtend, daß die Geschwindigkeit, mit der die Ausgleichung zwischen den Anionen der äußeren und der inneren Flüssigkeit stattfindet, sowohl durch das langsam als durch das schnell diffundierende Anion bestimmt sein muß.

Da die Diffusionsgeschwindigkeit des Chloridions, wie wir später sehen werden, etwa 3 mal so groß ist wie die des Nitrations, folgt hieraus, daß die Anionenausgleichung zwischen der äußeren und der inneren Flüssigkeit schneller verlaufen muß, wenn die

äußere Flüssigkeit eine Chloridlösung ist, als wenn sie eine Nitratlösung ist, was wiederum bewirken wird, daß man in der Chloridlösung ein größeres Blutkörperchenvolumen findet, als in der damit isosmotischen Nitratlösung — bis die Ausgleichung sich vollzogen hat.

Wir dürfen jedoch nicht vergessen, daß die aufgestellte Erklärung nur als Arbeitshypothese aufgefaßt werden darf, eine Hypothese, die, wenn sie auch meiner Meinung nach sehr zusagend ist und durch eine Reihe von Verhältnissen unterstützt wird, dennoch in zahlreichen Beziehungen einer näheren Verifikation bedarf, wie andererseits nicht geleugnet werden kann, daß es gewisse Verhältnisse gibt, die sich schwerlich mit der angeführten Erklärung vereinigen lassen.

Bevor ich zu diesen Versuchen übergehe, die indirekter Natur sind, sowie zu denjenigen, die ich bereits genannt habe, ist anzuführen, daß ich in einzelnen Beziehungen meine Auffassung auch mittels direkter Analysen zu bestätigen gesucht habe.

Eine Reihe von Forschern, von denen Hamburger als der erste, Fridericia als der letzte der Reihe zu nennen sind, haben nachgewiesen, daß $Cl^{\div}$ infolge einer Änderung der CO_2-Tension aus den Blutkörperchen aus- und einwandert; nach der obenangeführten Anschauung müßte eine entsprechende Auswechslung auch bei Änderungen des Anionengehalts der äußeren Flüssigkeit stattfinden. Entfernt man das Plasma und ersetzt es durch eine Nitratlösung, so ist zu erwarten, daß das NO_3-Ion in das Blutkörperchen eindringt, während $Cl^{\div}$ in Gemeinschaft mit den übrigen diffusiblen Anionen des Blutkörperchens aus den Blutkörperchen in die Lösung hinauswandert.

Da es keine einfache Methode zur Bestimmung von Nitrat gibt, habe ich diese Auswechslung durch Chloridbestimmungen nach Bangs Mikromethode (Chromatmethode) zu kontrollieren gesucht. Der Versuch ergab eine völlige Bestätigung der oben entwickelten Annahme.

Das $Cl^{\div}$ des Blutkörpercheninhalts ist in die äußere Flüssigkeit hinausgewandert in dem Falle, wo diese aus KNO_3 bestand, wogegen die Kontrollanalysen zeigten, daß dies nur in ganz geringem Grade der Fall gewesen war, wenn die äußere Flüssigkeit aus einem Anelektrolyten bestand; in ersterem Falle war die

Cl^{-}-Konzentration des Blutkörpercheninhalts durch die der äußeren Flüssigkeit dividiert = 22/27, in letzterem Falle = 10/1.

Da das Nachschwellen der Blutkörperchen in Lösungen von Salzen von monovalenten Anionen von einer Ausgleichung zwischen den diffusiblen Anionen der Blutkörperchen und dem monovalenten Anion der äußeren Flüssigkeit herrührt, so muß dies Nachschwellen ausbleiben, und man müßte statt dessen ein Schrumpfen erwarten, wenn die äußere Flüssigkeit aus divalenten Anionen besteht.

Bei einer Reihe von Versuchen zeigte es sich, daß das Nachschwellen sowohl in Sulfat- wie in Oxalatlösungen ausblieb, wie nach der aufgestellten Theorie zu erwarten war, aber das Nachschwellen, das gleichfalls eine einfache Folge der Theorie zu sein scheint, fand nicht in höherem Grade statt als gewöhnlich, und zwar erst nach den gewöhnlichen 24—48 Stunden. Dies bezeichnet eine Schwäche der Theorie, ließe sich aber vielleicht doch erklären; jedoch scheinen mir die verschiedenen Erklärungsmöglichkeiten nicht durchaus befriedigend, weshalb ich sie hier nicht eingehender bespreche, sondern nur auf sie hinweise[1]).

Da die Blutkörperchen in Salzlösungen schwellen, deren Anion monovalent und diffusibel ist im Verhältnis zum Blutkörperchenhäutchen, ist somit gegeben, daß isosmotische Lösungen nicht dasselbe Blutkörperchenvolumen ergeben können; der Unterschied des Blutkörperchenvolumens, den isosmotische Lösungen von Salzen mit monovalentem Anion liefern, ist, wie wir gesehen haben, nicht von bleibender Natur, wir müssen aber erwarten, daß Lösungen von Chloriden, Nitraten und anderen monovalenten Anionen größere Blutkörperchenvolumina zeigen werden als damit isosmotische Lösungen von indiffusiblen Anelektrolyten, wie die genannten Lösungen in einer dem Plasma gleichen Konzentration ein größeres Blutkörperchenvolumen ergeben müssen als das Plasma.

Enthält die äußere Flüssigkeit diffusible divalente Anionen, muß man kleinere Blutkörperchenvolumina erhalten als mit Lösungen von monovalenten diffusiblen Anionen.

Es finden sich in der Literatur verschiedene Angaben, welche diese Annahme bestätigen, aber auch viele, die derselben wider-

[1]) Rich. Ege, Glukosens, Fordeling mellem Plasma og de röde Blodlegemer. Inaug.-Diss. Köbenhaven 1919—1920.

sprechen; den letzteren Angaben scheint man am meisten Vertrauen geschenkt zu haben, weshalb der Satz: isosmotische Lösungen ergeben dasselbe Blutkörperchenvolumen, allgemein anerkannt worden ist. Daß dies in vielen Fällen nicht zuzutreffen scheint, wurde zuerst von Willerding[1]) angedeutet — wenn wir von den Abweichungen absehen, die Hedin gefunden zu haben meinte, sowie von den Fällen, wo die äußere Flüssigkeit Stoffe enthält, für die das Blutkörperhäutchen total permeabel ist ($NH_4^{\dot{+}}$-Salze, Harnstoff, Alkohol usw.). Willerding findet nämlich, daß die Blutkörperchen in einer NaCl-Lösung hämolysieren, wenn deren molare Konzentration auf $^1/_5$ Mol. gesunken ist, wogegen die Hämolyse in Na_2SO_4 und in Rohrzuckerlösungen erst in einer etwa $^1/_7$ molaren Lösung eintritt. Daß dieser Unterschied tatsächlich davon herrührt, daß das Blutkörperchenvolumen in einer $^1/_5$ m-NaCl-Lösung in ebenso hohem Grad geschwollen ist wie in einer $^1/_7$ m-Na_2SO_4-Lösung und in beiden Fällen so stark geschwollen ist, daß die Hämolyse eintreten muß, hat Hamburger[2]) gezeigt, indem er findet, daß eine NaCl- und eine Na_2SO_4-Lösung, welche dasselbe Blutkörperchenvolumen ergeben sollen, folgende osmotische Konzentrationen haben müssen:

$$NaCl \quad \Delta = 0,530$$
$$Na_2SO_4 \quad \Delta = 0,507$$

Sowohl Hamburgers als Willerdings Erklärung besagen, daß 2 $Cl^{\div}$ in das Blutkörperchen hinein und 1 $CO_3^{\div\div}$ aus demselben hinauswandern, weshalb das Volumen in der NaCl-Lösung größer sein muß als in der Na_2SO_4-Lösung, wo 1 $SO_4^{\div\div}$ nach Hamburger durch 1 $CO_3^{\div\div}$ ersetzt wird, eine Ausgleichung, die auf das Blutkörperchen keinen Einfluß ausübt, während nach Willerding in einer Na_2SO_4-Lösung keine Auswechslung stattfindet, da $SO_4^{\div\div}$ indiffusibel ist.

Hamburgers Erklärung kann kaum ganz korrekt sein, schon aus dem Grunde nicht, daß $CO_3^{\div\div}$ nicht in diesem System vorkommen kann. Dagegen kann $HCO_3^{\div}$ auftreten, aber in diesem Falle wird das Verhältnis teilweise umgekehrt; außerdem versteht man nicht, weshalb $SO_4^{\div\div}$ nur mit $CO_3^{\div\div}$ und nicht mit den diffusibeln monovalenten Anionen den Platz tauschen sollte.

[1]) Hamburgers Blutkörperchenmethode. Inaug.-Diss. Gießen 1897.

[2]) Osm. Druck und Ionenlehre, S. 238—239.

Im Gegensatz zu Hamburger (und Hedin) behauptet Koeppe, daß die isosmotischen Salzlösungen dasselbe Blutkörperchenvolumen ergeben, es sei, daß die Säure mono- oder divalent ist. Koeppes Versuch leidet jedoch an der Unsicherheit, daß er nicht die osmotische Konzentration seiner Flüssigkeiten bestimmt hat, indem er davon ausgeht, daß isomolekulare Lösungen von Chloriden, Bromiden und Nitraten unter sich isosmotisch und mit $^2/_3$ isomolekularen Salzlösungen divalenter Säuren (Schwefelsäure und Oxalsäure) isosmotisch sind, was nicht zutrifft.

Die von mir selbst angestellten Untersuchungen bestätigten, wie die folgende Tabelle zeigt, durchaus Hamburgers Versuche.

Versuch 3. Kaninchen. Oxalatblut.

Das Blutkörperchenvolumen in NaCl-Lösungen verschiedener osmotischer Konzentration:

	Δ	Blutkörperchenvolumen
NaCl	0,607	100
„	1,736	62,4
„	0,920	82,8
„	0,746	90,6
„	0,473	122,5
„	0,377	143,0
„	0,312	146[1]) 162[1])
Na_2SO_4	0,610	86,3
„	1,012	69,0
	0,555	92,8
„	0,467	106,7
„	0,380	119,2
„	0,280	150,0
„	0,230	149[1]) 170[1])
Glucose	0,608	87,4

Die Bestimmungen fanden statt mit 0,04 ccm Blut, das in 2 ccm der verschiedenen Lösungen hineinpipettiert wurde. Die Zentrifugierung begann etwa 10 Minuten nach der Vermischung. Was die Na_2SO_4-Lösungen betrifft, ist dieses Verhältnis ohne Bedeutung, von den NaCl-Lösungen gilt dies jedoch nicht; wenn etwa 1 Stunde nach der Vermischung Bestimmungen vorgenommen worden wären, hätte man etwa 5% größere Volumina gefunden.

[1]) Von den zwei Werten wurde der niedrigere direkt bestimmt; da in diesen Lösungen eine Hämolyse stattgefunden hat, sind diese Zahlen zu niedrig; der Grad der Hämolyse wurde colorimetrisch bestimmt, so daß es möglich war, das Volumen zu berechnen, das die Blutkörperchen eingenommen haben würden, wenn keine Hämolyse stattgefunden hätte; es ist diese Zahl, die in die Kolumne selbst eingetragen worden ist.

Aber bereits zu dem Zeitpunkt, wo die Bestimmungen stattfanden, ist das Blutkörperchenvolumen in den NaCl-Lösungen bedeutend größer als in den damit isosmotischen Na_2SO_4-Lösungen. Isosmotische Lösungen von NaCl und Na_2SO_4 sind also nicht unter sich isotonisch.

Wie man aus der Kurve und der Tabelle ersehen wird, sind die vorkommenden Unterschiede keineswegs klein; eine Na_2SO_4-Lösung, die dasselbe Blutkörperchenvolumen wie eine NaCl-Lösung mit $\Delta = 0{,}61$ ergeben soll, darf nur eine $\Delta = 0{,}50$—$0{,}51$ haben; ihre Konzentration ist also um etwa 20% niedriger.

Wenn dieser Unterschied von einem Austausch der divalenten Anionen des Blutkörpercheninhalts mit $Cl^{\div}$ der äußeren Flüssigkeit herrührt, muß eine einer osmotischen Konzentration von etwa $^1/_{20}$ Mol. entsprechende Auswechslung stattgefunden haben; wartet man bis zum vollständigen Ausgleich, muß man mit etwa $^1/_{15}$ Mol. rechnen. Da die Konzentration der diffusiblen Anionen in der äußeren Flüssigkeit auch nach einem vollkommenen Ausgleich wegen der großen Masse der äußeren Flüssigkeit ganz gering sein muß, so muß diese Zahl für den Gehalt der Blutkörperchen an diffusiblen divalenten — und trivalenten — Anionen maßgebend sein.

Abb. 1. Das Blutkörperchenvolumen in Natriumchlorid°, Natriumsulfat• und Glucose +. An der Abszissenachse ist die Gefrierpunktserniedrigung und an der Ordinatenachse das relative Blutkörperchenvolumen abgesetzt. (Das Volumen in Natriumchlorid mit einer Depression von 60° ist zu 100 angesetzt.)

Der Versuch zeigt noch eins: das Blutkörperchenvolumen ist identisch (oder annäherungsweise identisch) in isosmotischen Lösungen von Na_2SO_4 und Glucose. Da Kaninchenblutkörperchen nach den direkten Analysen impermeabel für Glucose sind, läßt diese Identität sich nur auf zwei Weisen erklären: 1. entweder ist das Blutkörperchenhäutchen impermeabel für $SO_4^{\div\div}$ oder wenigstens so wenig (d. h. langsam) permeabel, daß die Hineindiffusion von $SO_4^{\div\div}$, die in den etwa 10 Min. stattgefunden haben kann, in denen die Blutkörperchen in der Na_2SO_4-Lösung aufgeschwemmt waren, nicht zu spüren ist, oder 2. wenn das

Blutkörperchenhäutchen für $SO_4^{''}$ permeabel ist, muß $SO_4^{''}$, wie Hamburger, mit anderen Autoren, behauptet, in einem isosmotischen Verhältnis ausgewechselt werden.

Die letzte Möglichkeit kann man sich ganz außerordentlich schwer vorstellen; Hamburger denkt an eine Ausgleichung zwischen $SO_4^{''}$ und $CO_3^{''}$, aber in dem Blutkörpercheninhalt findet sich nur $HCO_3^{'}$; man könnte sich natürlicherweise denken, daß eine Ausgleichung zwischen SO_4 und einem anderen divalenten Anion, z. B. HPO_4, stattfände; da aber gegeben ist, daß das Blutkörperchen monovalente Anionen enthält, die leicht durch das Häutchen dringen, müßte man erwarten, daß eine Auswechslung von $SO_4^{''}$ sowohl mit mono- als mit divalenten Anionen eintreten würde, und das Blutkörperchen müßte dann einschrumpfen, sein Volumen müßte kleiner werden, als in der damit isosmotischen Glucoselösung. Die einzige Möglichkeit eines Ausgleichs in einem isosmotischen Verhältnis scheint dadurch bedingt zu sein, daß die Blutkörperchen eine passende Mischung von diffusiblen mono- und trivalenten Anionen enthalten (ob auch divalente Anionen vorkommen, ist hier ohne Bedeutung). Wie zusagend es aber auch ist, den Unterschied des Blutkörperchenvolumens in unter sich isosmotischen Lösungen ausschließlich durch eine Anionenauswechslung zu erklären, so gibt es, wie bereits angedeutet, eine Reihe von Verhältnissen, die eine solche Erklärung erschweren, was u. a. der untenstehende Versuch zeigt.

Versuch 4. Kaninchenblut. Defibriniert.

		Relatives Blutkörperchenvol.
$^1/_6$ m NaCl	$\Delta = 0,697$	100
Das Plasma des Tieres selbst	$\Delta = 0,600$	93
Na_2SO_4	$\Delta = 0,610$	86,7
Glucose	$\Delta = 0,608$	88,5

Da in der Glucoselösung kein Ausgleich stattfindet und da Blutkörperchen und Plasma a priori in Diffusionsgleichgewicht sein müssen, was die Anionen betrifft, müßten diese beiden Lösungen, deren osmotische Konzentration identisch ist, dasselbe Blutkörperchenvolumen ergeben; dies ist aber nicht der Fall; es müssen daher andere Momente vorliegen als diejenigen, mit denen wir uns bisher beschäftigten, durch welche das Blutkörperchenvolumen beeinflußt wird. In einem späteren Aufsatz werden wir uns mit der Bedeutung der Reaktion für das Blut-

körperchenvolumen beschäftigen; wir werden sehen, daß Reaktionsverschiebungen einen außerordentlich charakteristischen Einfluß auf das Volumen der Blutkörperchen ausüben, gleichzeitig werden wir aber leider auch sehen, daß das Verständnis der obengenannten Verhältnisse durch diese Untersuchungen nicht klargelegt wird. Das Blutkörperchenvolumen in Na_2SO_4 ist, praktisch gesprochen, dasselbe wie in Glucoselösungen derselben osmotischen Konzentration (vielleicht doch etwas kleiner), was insofern gut mit dem Umstand übereinstimmt, als in Na_2SO_4-Lösungen keine Volumenveränderung — kein Schrumpfen stattfindet. Die Schwierigkeit liegt aber eben in dem Umstande, daß die Schrumpfung ausbleibt.

Zusammenfassung.

1. Werden die Blutkörperchen in Lösungen von Salzen mit monovalentem Anion aufgeschwemmt, so nehmen die Blutkörperchen nicht sofort ein konstantes Volumen ein, sondern beginnen zu schwellen. Dies Schwellen, das in Chloridlösungen schneller von statten geht als in Nitratlösungen, kann recht bedeutend sein (10—15% des ursprünglichen Volumens).

2. In diesem Schwellen hat man die Erklärung für den sonderbaren Umstand, daß das Blutkörperchenvolumen in isosmotischen Lösungen von Chlorid und Nitrat verschieden ist. Wird das Volumen erst bestimmt, wenn das Schwellen aufgehört hat, wird sich kein Unterschied ergeben.

3. Dies Nachschwellen bleibt sowohl in Anelektrolytenlösungen (Mono- und Dihexosen) als in Salzlösungen mit divalentem Anion ($SO_4^{\div\div}$ $(COO)_2^{\div\div}$) aus.

4. Infolge des obengenannten Verhältnisses werden isosmotische Lösungen verschiedener Stoffe recht verschiedene Blutkörperchenvolumina herbeiführen können.

5. Diese Verhältnisse erklären sich am besten durch die Annahme, daß das Blutkörperchenhäutchen permeabel ist für eine Anzahl von Anionen, daß aber die Permeabilitätsgeschwindigkeit verschieden ist.

6. Eine Reihe der im obigen Aufsatz genannten Verhältnisse betreffs des Blutkörperchenvolumens und dessen Änderungen ist noch recht unverständlich.

Dielektrizitätskonstanten biochemischer Stoffe.

Von

Rudolf Keller.

(Eingegangen am 9. Januar 1921.)

Die Dielektrizitätskonstanten sind eine wichtige Fundamentaleigenschaft aller Dielektrika[1]). Fast alle in der Technik ursprünglich als Isolatoren benützten Stoffe, Harz, Kautschuk, Guttapercha, Wachs, Fette, Öle, Seide, Papier, Baumwolle, Wolle, Haare entstammen dem pflanzlichen oder tierischen Organismus, ihre Dielektrizität hat vermutlich eine biologische Bedeutung, sie wurden auch sehr früh auf ihre dielektrischen Eigenschaften untersucht. Gerade die interessantesten biochemischen Stoffe aber, die im normalen Stoffwechsel hervortretenden Eiweiße, Casein, Globuline, Nucleoproteide, Lipoide blieben ununtersucht, ferner blieben ununtersucht die Emulsionen dieser Kolloide in Wasser und in Salzlösungen, die die Hauptmasse der lebenden Substanz ausmachen. Man wird auf dieses Problem geführt, wenn man sich mit den Untersuchungen der elektrischen Ladungen und Ströme in lebenden Zellen beschäftigt und zwar vor allem deshalb, weil bei der Berührung von Substanzen jene Substanz sich positiv lädt, welche die höhere Dielektrizitätskonstante besitzt. Dies ist das Grundgesetz von Coehn, das 1898 entdeckt wurde, wohl in alle Handbücher der Physik, Elektrochemie und Kolloidchemie übergegangen ist, im Grunde aber recht wenig beachtet wurde, wie ja überhaupt die statische Elektrizität wegen der Namensgleichheit mit der galvanischen lange Zeit auch in der reinen Physik ein abseitiges Dasein geführt hat. Erst in den letzten Jahrzehnten ist mit dem Aufschwung der drahtlosen Telegraphie und mit der Entdeckung, daß das Coulombsche Gesetz der Vervielfachung der statischen Intensität nach dem reziproken Quadrat der Ent-

[1]) Auch die Leiter der Elektrizität haben eine theoretische Dielektrizitätskonstante, die aber bisher nicht meßbar ist.

fernung bis in elektronische Distanzen herab, auch noch im Innern des Atoms strenge Gültigkeit besitzt, ein neuer Aufschwung in die Forschungsarbeit über statische Elektrizität gekommen, die eine reiche Welt von Erscheinungen allein für sich hat. In der letzten Hauptversammlung der „Deutschen Bunsen-Gesellschaft" hob ein Diskussionsredner hervor, daß die Kraft, mit der die Wassermoleküle elektrostatisch an die geladenen Ionen angepreßt werden, etwa 100 Millionen Atmosphären Druck entsprechen.

Schon Boltzmann hat in den achtziger Jahren mit Nachdruck darauf hingewiesen, daß man zwischen statischer und galvanischer Elektrizität scharf unterscheiden müsse, da die statische Ladung unter Umständen einen anderen Nullpunkt haben kann als die galvanische. Da die Wortgleichheit für zwei so verschieden wirkende Energiearten die Ursache von zahlreichen Mißverständnissen und schiefen Auffassungen ist, so schlug Boltzmann für die statische Elektrizität den Namen Guerickismus vor, ein ausgezeichneter Gedanke, der aber zunächst gar keine Beachtung fand. Im Jahre 1898 brachte der Physikochemiker Coehn neuerlich Boltzmanns Anregung vor[1]), hatte aber damals ebensowenig Erfolg mit der neueren schärferen Begriffsumgrenzung. Bevor an Beispielen in die neue Auffassung eingegangen wird, sei zunächst geschildert, welche praktischen Probleme der Biochemie mit diesem Gegenstand in Zusammenhang stehen.

Das Coulombsche Gesetz besagt, daß sich geladene Körper in Medien von gleicher Dielektrizitätskonstante nach dem umgekehrten Quadrat der Entfernung anziehen, beziehungsweise abstoßen. Hierbei wird die Dielektrizitätskonstante des Vakuums oder ungenauer die der Luft mit 1 bezeichnet; man nennt das Verhältnis der Ladung der einen Belegung einer Leydener Flasche (oder eines beliebigen anderen Kondensators), die mit der betreffenden dielektrischen Substanz von der anderen Belegung isoliert ist, zu derjenigen Ladung, welche jene Belegung bis zum gleichen Potential in einer gleich dicken Luftschicht annimmt, ihre Dielektrizitätskonstante. Die Dielektrizitätskonstante ist also eine Kapazitätsgröße, und zwar, wenn wir die statische Elektrizität nach Boltzmann mit Guerickismus bezeichnen, die guerickistische Fassungskraft oder Polarisationsfähigkeit einer bestimmten Substanz.

---

[1]) Coehn, Ann. d. Physik 64, 217. 1898.

Dies ist seine experimentelle Meßdefinition. Praktisch lädt sich der Stoff mit höherer Dielektrizitätskonstante im Wasser oder gewöhnlichen, nicht fetten, ätherischen oder harzähnlichen biologischen Flüssigkeiten stets negativ, erhält also, falls nicht chemische Ionenkräfte eine Gegenwirkung ausüben, einen Bewegungsimpuls zur Anode und wird von negativen Potentialflächen abgestoßen, die in lebenden Zellen, wie wir aus der Elektrophysiologie wissen, sehr häufig und ziemlich stark sind. Am bequemsten verfolgen kann man diese Erscheinungen naturgemäß mit Vitalfarbstoffen; durch die intensive Beschäftigung mit Vitalfarbstoffen und mikroskopischen Schnitten, deren Elektrizitätspole mir aus anderen Experimenten vorher genau bekannt geworden waren, bin ich auch auf die allgemeine Bedeutung der Dielektrizitätskonstante für die Bewegungsrichtung der mikroskopischen und ultramikroskopischen Partikel geführt worden. Es versteht sich von selbst, daß die ungefärbten Körperkolloide sich nicht anders verhalten können wie jene Substanzen, die durch besondere Lichtabsorptionsverhältnisse dem menschlichen Auge als gefärbt erscheinen. Während man überwiegend der Meinung gewesen ist, daß die Wanderung und das Festhalten gewisser Substanzen in den Zellen in erster Reihe durch chemisch-konstitutive Einflüsse bedingt sei, stellte es sich in einer großen Anzahl von Versuchen heraus, daß die Dielekrizitätskonstante der stärkste Faktor der Wanderungsrichtung und der schließlichen Adsorption der Farbstoffe, vermutlich auch der kolloiden ungefärbten Nahrungsstoffe der Zelle ist. Bei der mikroskopischen Untersuchung sah es so aus, als ob auf das Zustandekommen einer positiven (anodischen) Färbung oder der entgegengesetzten kathodischen Färbung überhaupt nur die Dielektrizitätskonstante des Lösungsmittels zusammen mit der ionischen Aufladung der Lösung (sauer oder basisch) von Einfluß sei und keinerlei konstitutions-chemische Eigenschaften. Über 100 Farbstoffe folgten ausnahmslos diesen Regeln und auch Stoffe von vollkommen chemisch-neutraler Natur und Reaktionsträgheit verhalten sich demgemäß. Die Mikroskopiker benützen, wie beispielsmäßig erwähnt sei, zum Einschließen von Dauerpräparaten einen aus hochmolekularen Kohlenwasserstoffen bestehenden Asphaltlack, der chemisch vollständig unangreifbar ist. Diesen Asphaltlack habe ich in Benzol (D.-K. 2) aufgelöst, in Fließpapier

die kathodische Wanderungsrichtung erprobt und hierauf mit den biologischen Testobjekten mit diesem chemisch mit wässerigen Lösungen reaktionsunfähigen Stoff scharfe Kathodenbilder erhalten. Oder ich erhielt mit elementarem Schwefel, in alkalischem Wasser (D.-K. 81) emulsioniert, schön gelbe Anodenbilder und mit demselben Schwefel in Alkohol (D.-K. 25) Kathodenbilder. Die Teerfarben zeigen diese Erscheinung ebenfalls sehr deutlich, jedoch nur einige 5 oder 10 Minuten, worauf sich das Bild aus vorläufig unbekannten Gründen vielleicht infolge einer Umladung der Zellkolloide, in ein reines Anodenbild umzuwandeln pflegt. Ein sinnfälliges Experiment, wie wenig die chemisch-konstitutive Besonderheit auf die Bewegung der kolloiden Phase Einfluß hat, ist die Wanderungsrichtung des elementaren Jods, wohl eines der elektronegativsten Elemente, das wir besitzen, und das sich in Dispersionsmitteln von niedriger Dielektrizitätskonstante auf eine Wanderungsrichtung zur Kathode bringen läßt. Im Wasser oder Jodkaliumlösung ist Jod ein scharfes Anodenreagens.

Naturgemäß ist auch die Wanderungsrichtung des Wassers im elektrischen Feld durch seine Dielektrizitätskonstante bedingt. Dieser Umstand tritt bei der gewöhnlichen Versuchsanordnung nicht in Erscheinung, weil bei der Elektrophorese in U-Röhren das Wasser den ganzen Schwerewiderstand zu überwinden hätte. Unter geeigneter Versuchsanordnung ist jedoch die „negative" Osmose des Wassers, das heißt die Wanderung entgegen dem osmotischen Druckgefälle leicht zu konstatieren. Solche Versuche hat in den letzten Jahren namentlich J. Loeb[1]) in ausgedehntem Maße gemacht, indem er die Kataphorese von Wasser in quantitativer Weise unter den verschiedensten Versuchsbedingungen untersuchte. Seine Resultate sind vollkommen übereinstimmend mit dem Coehnschen Ladungsgesetz der Dielektrika, was um so wertvoller ist, als dem amerikanischen Forscher eine Beweisführung dieser Art ferngelegen ist. Loeb hat bereits hervorgehoben, wie wichtig diese Resultate für die Stoff- und Wasserbewegung in den Zellen sind.

Nach dem Vorgesagten wird man verstehen, daß es von großem Interesse war, zunächst die Dielektrizitätskonstanten der wichtigsten biochemischen Substanzen — es sind dies durchwegs

[1]) J. Loeb, Journ. of General Physiology 1920.

Kolloide, und fast ausschließlich hydrophile Kolloide — genau zu bestimmen. Die Physiologie und die Biochemie hatte bis jetzt kein Bedürfnis, solche Konstanten festzustellen, die auch in der reinen Physik noch ziemlich unvollständig und ungenau vorliegen. In Landolt-Börnsteins Tabellen[1]) findet man verhältnismäßig wenige und einander widersprechende Angaben. Die meisten Biochemiker werden auch jetzt noch nicht von der dringenden Notwendigkeit der Untersuchung der Dielektrizitätskonstanten überzeugt sein; besonders die in bestimmten Hypothesen und Arbeitsmethoden fest eingesponnenen Vertreter der klassischen Ionenchemie, die in den letzten Jahrzehnten mit ihren neuen experimentellen Methoden eine große Reihe der interessantesten Tatsachen zutage gefördert haben, werden schwerlich damit einverstanden sein; ihre Resultate anders als rein ionen-theoretisch deuten zu lassen. — Man wird das Ungewohnte der statischen oder guerickistischen Betrachtungsweise hypothetisch oder gar phantastisch finden, obzwar ein vorurteilsloses Eingehen auf diese Anschauung zeigen müßte, daß mit Ausnahme des niemals angezweifelten, seit 22 Jahren bekannten Coehnschen Ladungsgesetzes keine neuen Hypothesen vorgebracht werden, vielmehr andere Hypothesen als für gewisse Erscheinungsgebiete entbehrlich angenommen werden. Die Aufsuchung des guerickistischen Faktors der biochemischen Mechanik beschränkt sich zunächst auf die Zusammenordnung leicht nachprüfbarer Tatsachen.

Wie bereits vor Inangriffnahme der Dielektrizitätsuntersuchungen zu vermuten war, konnte ein einfaches Verhältnis der Dielektrizitätskonstanten von Lösungsmitteln und Gelöstem kaum erwartet werden. Schon in meiner letzten Schrift „Elektrohistologische Betrachtungen“[2]) hatte ich die Vermutung ausgesprochen, daß Jod (D.-K. 4) in Alkohol (D.-K. 25) zur Kathode wandern könnte, was ich zu diesem Zeitpunkt nur an biologischen Präparaten und im Filtrierpapierstreifen, noch nicht aber im Strom selbst beobachtet hatte. Es war, da die Dielektrizitätskonstante des Jod längst festgestellt war, in der Oberfläche der Partikel ein Jodalkoholat oder sonst eine Oberflächenverbindung zu erwarten,

---

[1]) Landolt-Börnstein, Physikal-chem. Tabellen. 4. Aufl. Springer, Berlin 1912.

[2]) Keller, Elektrohistolog. Untersuchungen an Pflanzen und Tieren, Prager Verlagsgesellschaft. Smichow, Prag 1920.

die eine Dielektrizitätskonstante höher als Alkohol haben müßte. Oder der Alkohol ist an der Grenzfläche dielektrisch abnormal. Tatsächlich hat sich bei den untersuchten Farbstoffen ergeben, daß die Dielektrizitätsverhältnisse sehr verwickelt sein müssen. Man wußte schon lange, daß solche Kolloide Solvatmoleküle, möglicherweise kontrahiert, mit sich führen, aber die Versuche ergeben, zum Beispiel mit Nachtblau in Lösung, Resultate, die noch anderen Nebenfaktoren wahrscheinlich machen, zum Beispiel eine elektrostatisch festgehaltene Helmholtzsche Doppelschicht von Lösungsionen oder eine sonstige vorläufig unentwirrbare chemische Oberflächenwirkung.

Untersuchung von Biokolloiden.

Die Biokolloide waren im letzten Jahrzehnt das Hauptuntersuchungsobjekt der ionentheoretisch arbeitenden Richtung der Biochemie. Es wurde zuerst die Wanderungsrichtung im elektrischen Feld bestimmt, und zwar in destilliertem Wasser, in Säure und Alkali und hierauf der isoelektrische Punkt bestimmt, d. h. es wurde die Voltspannung der Lösung, bei der die Umkehr der Wanderungsrichtung ermittelt wurde, gegen die Wasserstoffelektrode gemessen, nicht aber die gefundenen Volts veröffentlicht, sondern diese sogleich nach der Nernstschen Hypothese aus dessen Doktordissertation von 1888 umgerechnet und in Wasserstoffionenkonzentrationen oder deren negativen Logarithmen angegeben. Die Arbeiten von Sörensen, Friedenthal, Pauli, Michaelis, Loeb, Rona, Hasselbalch sind bekannt, so daß eine Wiedergabe ihrer Methodik wohl entfallen kann. In meiner letzt erschienenen Monographie „Elektrohistologische Untersuchungen" habe ich meine Bedenken gegen einzelne Folgerungen der Ionentheoretiker ausführlich erörtert und die Vermutung ausgesprochen, daß bei der Feststellung des isoelektrischen Punktes möglicherweise die Differenz der Dielektrizitätskonstanten vernachlässigt worden ist, welche autonom ohne jede Mitwirkung von Ionen auch in nicht wässerigen Lösungen und Suspensionen oder Emulsionen ein statisches Elektrizitätspotential an der Grenzfläche Kolloid-Flüssigkeit erzeugen muß. Diese Möglichkeit war um so naheliegender, als die meisten Biokolloide einen isoelektrischen Punkt von rund 10^{-5} Wasserstoffionen ergaben, demnach also in Wirklichkeit (nach Nernsts Formel zurück-

gerechnet) etwa 100 Millivolt auf der sauren Seite von neutralem Wasser geladen gefunden worden waren. Da die Untersuchungen der Kolloidchemiker für Neutralkolloide eine gewöhnlich negative statische Ladung von etwa 60—70 Millivolt auf der Grenzfläche ergeben hatten[1]), so scheinen die Ziffern für Albumin, Globulin, Casein, Pflanzenprotoplasma bis auf 0,04 Volt angenähert zu stimmen. Von Wichtigkeit dabei war, ob die Dielektrizitätskonstante der Proteine sich in solchen Grenzwerten bewegen würden, die auf einen überwiegend elektrostatischen Ursprung der charakteristischen Aufladung dieser Proteine schließen lassen würden.

Die Untersuchungen, die fortgesetzt werden sollen, ergaben bisher folgende Dielektrizitätskonstanten:

Tabelle I.

Rohrzucker	4,9	Nachtblau (Grübler)	4,4
Gelatine, farblos, Handelsw.	5,6	Kongorot (Grübler)	20,0
Eialbumin (chem. r. Kahlbaum)	16,3	Methylenblau (ch. r. Grübler)	18,1
Casein (techn. Kahlbaum)	8,0	Harnstoff	3,5
Hämoglobin (Kahlbaum)	14,2	Harn	82,0
Cholesterin	5,4	Blut (Mensch)	85,0
Dextrin (Kahlbaum)	8,0	Serum (Mensch)	85,0
Kartoffelstärke (Handelsw.)	11,6	Serum (Pferd)	85,0
Papier, ungeleimt	3,4	Diphterie-Heilserum	85,0[2])

An diesen Konstanten ist bemerkenswert zunächst die hohe Dielektrizitätskonstante des Blutserums, die damit übereinstimmt, daß Schulemann und andere Experimentatoren bei Injektionen von ziemlich neutralen Emulsionen in die Blutbahn immer nur Anodenfärbungen erhielten. Überraschend ist die ähnliche Dielektrizitätskonstante von Albumin und Hämoglobin die

[1]) M. C. Lewis (Koll. Zeitschr. 4, 5. 1909) findet an der Grenzfläche Öl-Wasser 0,05 Volt, Hevesi findet zirka 60 Millivolt in verschiedenen Zeitschriften, Michaelis und Sachs finden bei Tierkohle-Wasser nach Adsorptionsversuchen ein Herabdrücken der Acidität um 50—70 Millivolt (Kolloid-Zeitschr. 9, 277. 1911).

[2]) Die Messungen wurden nach der zweiten Drudeschen Methode (Ann. d. Physik 61, 466. 1897) im physikalischen Institut der deutschen Universität in Prag mit der Wellenlänge von 46 cm von Herrn Privatdozent Dr. Reinhold Fürth und Fräulein Nelly Weigner ausgeführt, denen ich an dieser Stelle verbindlichst danke. Die Resultate werden nach dem Abschluß der Arbeiten genauer veröffentlicht werden.

jedes einen ganz anderen isoelektrischen Punkt haben. Es hat den Anschein, als ob das Hämoglobin doch aus konstitutionschemischen Ursachen einen merkbaren elektrischen Faktor in sich trägt, was man nach der jetzt üblichen Betrachtungsweise einen Ionenfaktor nennen müßte. Ausch seine auffallend stärkere chemische Affinität zum Sauerstoff deutet an, daß Hämoglobin nicht ein bloßes (chemisch unreaktionsfähiges) Dielektrikum ist.

Die gleiche Erscheinung offenbart sich bei den Farbstoffen, bei denen nach ihrem Verhalten im Alkohol zunächst eine Dielektrizitätskonstante zwischen 25 (Alkohol) und 81 (Wasser) zu erwarten war. Diese müssen jedoch noch in gereinigter Form nachuntersucht werden.

Anfangs hatte ich die Absicht, eine neue kataphoretische Bestimmungsmethode der Dielektrizitätskonstante zu versuchen auf Grund meiner Beobachtungen über die exakte schnelle Umkehrbarkeit der Wanderungsrichtung im elektrischen Strom. Da z. B. Nachtblau im Wasser (D.-K. 81) zuverlässig zur Anode wandert, im Alkohol (D.-K. 25), Benzin (D.-K. 2) zuverlässig zur Kathode, so dachte ich daran, aus Wasseralkoholmischungen oder Wasser-Zuckerlösungen Teststufen herzustellen, durch die sich mit Hilfe von Wanderungsversuchen ziemlich einfach mit sehr geringen Substanzmengen unter dem Mikroskop, vielleicht sogar im frischen Objekt, zumindest eine erste Annäherung der Dieletrizitätskonstante werde gewinnen lassen. Dieser Gedanke jedoch zeigte sich vorläufig als nicht realisierbar. Nachtblau z. B. ergab eine Dielektrizitätskonstante 7, Methylenblau, das sich sehr ähnlich verhält, eine Dielektrizitätskonstante 19. Es zeigte sich aufs neue, was aus den Resultaten anderer Methoden hätte sicher erwartet werden müssen, daß die hydrophilen Kolloide beträchtliche Mengen des Lösungsmittels mit sich führen, ein „jackett of water molecules", wie sich Loeb auszudrücken pflegt. Die in den Lösungen und Dispersionen praktisch wirksame Dielektrizitätskonstante ist also nicht die Dielektrizitätskonstante des festen Körpers, überhaupt nicht die Dielektrizitätskonstante des isolierten reinen Stoffes, sondern offenbar die Dielektrizitätskonstante des ganzen Komplexes von Kolloid, Lösungsmittel und adsorbiertem Elektrolyten, als den sich die hier behandelten Substanzen nach den Untersuchungen der Physikochemiker und der Kolloidchemiker übereinstimmend ergeben haben. Es ist

bekannt, daß die Dielektrizitätskonstante nicht bloß durch die chemische Konstitution bedingt wird, sondern in starkem Maße durch den physikalischen Zustand, ob flüssig, fest oder gasförmig, ob gelöst oder in Substanz. Wasser beispielsweise hat flüssig die Dielektrizitätskonstante 81, gasförmig wie fast alle Gase die Dielektrizitätskonstante 1 und als Eis die Dielektrizitätskonstante 3. Krystalle haben verschiedene Dielektrizitätskonstanten je nach der Richtung der Untersuchung im Verhältnis zum Achsensystem der Krystalle, Holz je nach der Faserrichtung.

Grenzen der Ionentheorie.

Aus den gemessenen Dielektrizitätskonstanten ergibt sich wohl, was überdies auch alle Einzelexperimente der älteren Literatur erkennen ließen, daß eine erhebliche Oberflächenladung der dielektrischen Stoffe Eiweiße, Globuline, Nucleoproteide primär in allen wässerigen Dispersionen existiert, die von dem von der herrschenden Theorie angenommenen Ionencharakter der Eiweißmoleküle unabhängig ist und zu ihm addiert oder von ihm subtrahiert werden muß, wenn dieser Ionencharakter überhaupt existiert, was angesichts des Umstandes, daß die experimentell gefundenen statischen rund 60 Millivolt etwas mehr als einer Größenordnung Wasserstoffionen äquivalent sind (55 Millivolt) und die Positivität der Flüssigkeit nach der Berührung mit den Kolloiden gewöhnlich etwas weniger als zwei Größenordnungen Wasserstoffionen auf der alkalischen Seite angegeben wird, vermuten ließe, daß Eiweiß, Globulin, Casein nahezu neutral wären und vor allem ihre guerickistische Aufladung gegen Wasser die Ursache ihrer Kataphorese im elektrischen Feld und ihres isoelektrischen Punktes bei 10^{-5} Wasserstoffionenkonzentration wären. Wenn hier zitiert wird, daß der isoelektrische Punkt des Caseins bei $2{,}5 \cdot 10^{-5}$ gefunden wurde, das Eieralbumin bei $1{,}6 \cdot 10^{-5}$, das Serumeiweiß bei $1{,}5 \cdot 10^{-5}$, der Elodeazellen bei $0{,}78—1{,}56 \cdot 10^{-5}$, so bedeutet dies keineswegs, daß wirklich spezifische Ionen analysiert und vorgefunden wurden, sondern es wurde, wie es die herrschende Richtung verlangt, die negative Millivoltladung gegenüber der Wasserstoffelektrode gemessen und daraus nach der Nernstschen Formel die Wasserstoffionenkonzentration berechnet. Wollte man also genau angeben, was die Experimente wirklich gemessen haben, so müßte man die Ionenkonzentration

auf die gemessenen Millivolt zurückrechnen, wobei sich keine große Differenz mehr gegenüber der statischen Oberflächenkolloidladung ergeben würde.

Diese seit 10 Jahren eingeführte Übung, eine wichtige biologische Tatsache, nämlich das charakteristische elektrische Potential gewisser Säfte, Enzymlösungen, Zellen nicht so anzugeben, wie sie bestimmt wurden, nämlich in Millivolts, sondern nach einer Hypothese umzurechnen und nur diese hypothetischen Ziffern mitzuteilen, ist ein Übelstand, der in der reinen Elektrochemie längst abgeschafft ist. Wenn, wie es vorkommt, noch die Temperaturangabe fehlt, so ist der Leser nicht mehr imstande, durch komplizierte Berechnungen die Meßresultate wieder aufzufinden, die die wertvollsten Ergebnisse der betreffenden Arbeiten bedeuten. Wenn die von den klassischen Elektrochemikern begründete und geleitete „Deutsche Bunsen-Gesellschaft" es ausdrücklich untersagt, Potentiale für ihre Sammlungen anders als hypothesenfrei vorzulegen, so sollten auch die biochemischen Schüler dieser Männer nicht darauf bestehen, Aciditäten und Alkalescenzen in umgerechneten Wasserstoffionen zu veröffentlichen, zumal doch in biochemischen Flüssigkeiten mit ihren Milliarden elektrisch geladener Kolloide viel weniger übersichtliche Verhältnisse vorliegen wie in der reinen Elektrochemie der anorganischen Elemente.

Zu der üblichen Analogisierung der großen biochemischen Kolloidkorpuskeln mit einfachen Ionen sei auch noch hervorgehoben, daß die Größenverhältnisse dieser Moleküle derartige sind, daß eine Ionisierung, sofern sie überhaupt stattfinden könnte, ganz andere Erscheinungen hervorbringen müßte wie bei kleineren Molekülen. Es ist nützlich, sich einmal an der Hand einer Tabelle die Längendimensionen, dann die Raumerfüllung der Objekte der biochemischen Variante der Ionentheorie der Eiweiße, Gelatine und dergleichen vor Augen zu stellen und sie mit Dimensionen des freien Auges zu vergleichen, um zu erkennen, was diese Theorie quantitativ bedeutet. Man geht dabei praktisch vom Tausendstel Mikron aus, der Einheit der mikroskopischen Messungen. Die 1000 mal kleinere Größe ist die Einheit der Kolloidchemie, das Millimikron, das man ansschaulich nach dem Begründer der Kolloidchemie mit einer Graham - Einheit bezeichnen könnte; wenn man nun die 1000 mal kleinere Einheit nach dem Systema-

tiker der Ionenchemie, als **Ostwald**-Einheit bezeichnen könnte und sich vor Augen hält, daß 1000 mal 1000 mal 1000 also eine Milliarde Ionen in einem gewöhnlichen Kolloidkorpuskel Platz finden, so kann man sich eine konkrete Vorstellung machen von dem Gedankenbilde jener biochemischen Forscher, die die Hypothesen der Ionenchemie auf die Verbindungen der Kolloide mit den Ionen ausdehnen. Das volle Bild der in Betracht kommenden Dimensionen gewinnt man jedoch erst dann, wenn man noch die 1000 mal kleinere Einheit mit zum Vergleich heranzieht, die Einheit des Atomkerns, die **Rutherford**-Einheit (10^{-13} cm). Diese Einheit müßte eigentlich in der physiologischen Chemie der letzten Jahre eine große Rolle spielen, weil sie die Dimension des Wasserstoffions ist. Das so viel genannte Wasserstoffion ist nämlich nach den Forschungen der Untersucher des Atominnern nicht ein Planetensystem aus einem positiven Atomkern mit um ihn kreisenden negativen Elektronenringen, sondern ein positiver Kern ohne Elektronen, wodurch es so viel kleiner ist als alle anderen Atome. Das Wasserstoffion ist also linear rund 1000 mal, im Raum rund 1000 000 000 mal kleiner als das Wasserstoffatom und andere Atome und Ionen, oder 1 Million mal im Durchmesser, 1 Billion mal im Kubikinhalt kleiner als ein Eiweißpartikelchen. Man stelle sich nun vor, daß die herrschende Richtung das Eiweiß als Säure auffaßt, das heißt als Verbindung des riesigen Moleküls mit einem Billionstel, einem Wasserstoffion, so liegt darin eine kleine Hyperbel deshalb, weil das Wasserstoffion ebenso wie das Eiweiß niemals allein in der Lösung auftritt, sondern immer mit zahlreichen elektrostatisch festgehaltenen Wassermolekülen beladen ist, ebenso wie das Eiweißmolekül, bei dem aber im vorstehenden Vergleich das Wasserquantum, das seine Masse linear um das 40fache übertrifft, mitgerechnet ist. Das Mißverhältnis der Massen bei dieser stöchiometrisch gedachten Verbindung ist aber immer noch recht groß, zumal das Wasserstoffion ja nicht allein zur Stelle ist, sondern der ganze Raum mit Milliarden schwingender Elektrizitätspotentiale positiver und negativer Natur erfüllt angenommen wird. Nach der herrschenden Meinung schwingen diese Moleküle und Ionen ungeordnet zwischen dem Eiweiß und dem Ion.

Die Eiweißsäure der Biochemiker ist also eine stöchiometrische Verbindung eines Montblancs mit einem Bakterium, wobei das

Tabelle II.

Dimensionen vom Mikron abwärts.

Name	Metermaß cm	Übertragen auf Gegenstände	Biochemisches Objekt
1. Mikron-Einheit der Mikroskopie	10^{-4}	Montblanc	kleinste Zelle
2. Graham-Einheit der Kolloidchemie	10^{-7}	ebenerdige Hütte	Eiweißmolekül
3. Ostwald-Einheit der Physikochemie	10^{-10}	Sandkorn	Chlorion
4. Rutherford-Einheit der ultraatomaren Forschung	10^{-13}	Bakterium (mit freiem Auge nicht mehr sichtbar)	Wasserstoffion oder Atomkern

ganze Innere des Berges und der gesamte Raum außerhalb des Berges von unzähligen bewegten Bakterien erfüllt angenommen wird. Es ist eine Analogisierung der Vorstellungen und Gleichungen der Ionenverbindungen, die für ganz andere viel kleinere Objekte gedacht sind, auf Gegenstände, die durch ihre Dimensionen derartigen Berechnungen entrückt sind.

Dielektrizität und Kapillarität.

Auf den Zusammenhang zwischen Dielektrizitätskonstante und Capillarwirkungen bin ich durch meine pflanzlichen Elektrizitätspole geführt worden, und habe dann die Gültigkeit des Coehnschen Gesetzes für Oberflächenwirkungen in Fließpapier, Baumwolle, Seide, Kohlepulver, Glaspulver, Gelatine, Sand, Glascapillaren teils selbst in systematischen Untersuchungen bestätigen können, teils in der älteren Literatur, gewöhnlich als unerklärliche Ausnahmen beschrieben, vorgefunden. Die nunmehr vorliegenden Dielektrizitätskonstanten lassen erkennen, daß die wässerigen Suspensionen der vorgenannten Stoffe, die alle eine Dielektrizitätskonstante von 2—8 haben, gegen Wasser von Dielektrizitätskonstante 81 beträchtlich negativ sein müssen. Sie wandern auch sämtlich zur Anode und laden reines Wasser beim Schütteln mit ihnen positiv, so daß es sich nachher am Quadrantenelektrometer oder am Capillarelektrometer, aber auch mit Indikatorfarblösungen wie eine alkalische Lösung verhält. Auch verhalten sich diese Stoffe gleichartig, wenn man Lösungen von ihnen ansaugen läßt, oder durch sie durchfiltriert. Das Filtrat oder die aufsaugende Flüssigkeit wird positiv (alkalisch) und mitgeführte anionisch

wandernde Korpuskeln werden sofort niedergeschlagen. Das geschieht bei Baumwolle, Seide, Glaspulver, Sand, Papier genau gleichartig, bei Gelatine ähnlich, aber nicht so deutlich.

Für Tierkohle ist diese Tatsache durch Michaelis und Lachs (1911) durch Rona und Michaelis[1]) (1919) festgestellt und genau gemessen, für Glaspulver, Sand, Filtrierpapier, durch Maliarski[2]) für Gelatine ist von Liesegang[3]) eine ganze umfangreiche Literatur veröffentlicht worden. Es ladet sich nicht nur einfach das Wasser positiv, sondern es treten Zerlegungen von Salzlösungen, Entmischungen von Salzen und Kolloiden, Emulsionen ein, Hydrolysen von Proteinen u. dgl. Die erste Entdeckung der starken zerlegenden Wirkungen von Filtrierpapier machte 1861 Schönbein in Basel; dessen Schüler Goppelsroeder veröffentlichte 1910[4]) einen dicken Band Capillaranalysen, die fast alle bekannten chemischen Verbindungen betrafen. Goppelsroeders Schüler Fichter, ebenfalls in Basel, setzte diese Arbeiten fort und entdeckte, daß die Capillarzerlegung elektrischer Natur sei, welchen Gedanken seine Schülerin Sahlbom weiter ausarbeitete.

Wie bereits früher mitgeteilt[5]), fallen anodisch wandernde Kolloide, wie sie die große Mehrzahl der biochemischen Stoffe darstellen, sofort nach der Eintauchzone in Papierstreifen aus und das reine Wasser wandert, leicht alkalisch reagierend, allein im Papier weiter. Kathodisch wandernde Kolloide oder Ionen steigen mit dem Wasser auf, ebenso die neutralen Korpuskeln, die stark kathodischen Stoffe zeigen eine mehr oder weniger deutliche Tendenz, sich zuoberst anzureichern. Zur praktischen Behandlung der Capillaranalyse muß hinzugefügt werden, daß Kolloide, wie Eiweiß, Globulin, aber auch Farbstoffe von alkalischen Lösungen einen anodischen Wanderungsimpuls erhalten, in saueren einen kathodischen und daß das Papier ein wenig alkalisiert (es macht wie Tierkohle von derselben Dielektrizitätskonstante rund 60 Millivolt positiv gegen den Neutralpunkt); es erhalten also, namentlich bei längerem Capillarisieren und starken Verdünnung — in Fließpapier alle Substanzen eine schwache oder stärkere Verschiebung nach der anodischen Wanderungsrichtung. Ferner darf man die Lösungen nicht zu konzentriert nehmen, da eine

---

[1]) Michaelis und Lachs, Kolloid-Zeitschr. 9, 277. 1911; Rona und Michaelis, Biochem. Zeitschr. 97, 57. 1919.

[2]) Maliarski, Kolloid-Zeitschr. 23, 113. 1918.

[3]) Liesegang, Kolloidchemie des Lebens. Steinkopff, Dresden 1909.

[4]) Goppelsroeder, Capillaranalyse. Steinkopff, Dresden 1910.

[5]) Keller, Biochem. Zeitschr. 107, 44. 1920.

bestimmte Ladung des Filtrierpapiers natürlich nur eine gewisse Maximalkonzentration zerlegen kann, nach einer Art von Massenwirkung der dielektrischen Potentialsummen. Stark konzentrierte Lösungen verhalten sich also ähnlich wie kathodisch wandernde oder neutrale.

Einen einfachen Versuch, der die Ladungsgesetze der positiven und negativen Kolloide in einem Zug vordemonstriert, kann man mit einer Lösung von Methylviolett 2 B. (Grübler) in wenigen Minuten ausführen. Man säuert die Lösung vorsichtig gerade soviel an, daß der Umschlagspunkt in gelbgrün überschritten wird, was bei einer Säureladung von rund 0,2 Volts gegen neutral eintritt (die herrschende Theorie beschreibt diesen Punkt umgerechnet in Wasserstoffionen 10^{-3}). Nun läßt man diese Lösung von Fließpapier ansaugen. Das gelbgrüne, saure Methylviolett ist wie angesäuertes Albumin kathodisch und wandert mit dem Wasser nach oben. Da aber dieser Indikator sehr empfindlich ist, so bewirkt die beim Ansaugen, positiv (alkalisch) sich ladende Lösung, daß nach wenig Millimetern Aufstieg sich eine feinere, dann breitere, schön violette Linie zeigt, die das neutrale, normalgefärbte Methylviolett repräsentiert. Beim weiteren Aufsteigen wird die Lösung immer positiver, alkalischer. Das bewirkt, daß das Methylviolett einen anodischen Wanderungssinn erhält — die Kolloidchemiker nennen diesen Vorgang eine „Umladung" — und es stellt sich das typische Bild der Anodenfarbstoffe ein, ein farbloser Wasserstreif, dem Farbstreif vorauswandernd. Man sieht auf 2 cm Papier nacheinander alle Capillaritätsbilder vor sich, den kathodischen, den neutralen und den anodisch wandernden Farbstoff.

Mit diesem sehr empfindlichen Indikator kann man die Gegenwanderung der negativen und positiven Varianten auch anders demonstrieren. Man gibt einen Tropfen der angesäuerten Lösung auf einen Objektträger und daneben einen Tropfen Brunnenwasser, destilliertes Wasser, Neutralsalz oder schwach saure Schwermetallsalze in Lösung. Wenn man nun zwei solche Tropfen vorsichtig in Verbindung bringt, so sieht man mit freiem Auge das blau wandernde anodische Methylviolett in der Richtung auf die positive (weniger saure) Lösung wandern, das gelbgrüne kathodisch wandernde angesäuerte Methylviolett — nicht so deutlich, wie das blaue — in der entgegengesetzten Richtung sich

zurückziehen. Wenn der positive Tropfen nicht direkt stark alkalisch ist, so sieht man das Blau nicht unmittelbar bei der Begegnung entstehen, sondern erst zwei bis drei Millimeter hinter der Berührungslinie.

Das angesäuerte Methylviolett zeigt infolge seiner großen Empfindlichkeit, die bei 0,50 Volt basischer Reaktion von goldgelb in zeisiggrün umschlägt, bei weiteren 0,05 Volt in grünblau, dann in blau, und beim Neutralpunkt in violett auch andere Oberflächenerscheinungen mit großer Klarheit. Seit Helmholtz wird an Grenzflächen von Flüssigkeit-Glas oder Flüssigkeit-Luft eine dielektrische Doppelschicht angenommen, der man allerdings nur molekulare Dimensionen zuschreibt. Betrachtet man einen langsam eintrocknenden Tropfen gelbgrünen Methylvioletts unter schwacher 100facher Vergrößerung, so sieht man plötzlich an den halbmondförmigen Vorsprüngen des trocknenden Tropfens ziemlich große tiefblaue Randschichten auftauchen, die sich scharf halbmondähnlich von der gelbgrünen Lösung abheben, während die gelbgrüne Partie sich am Tropfenrade ebenfalls wie alle mitwirkenden Lösungen in der Farbe vertieft. Etwas Ähnliches, eine kathodisch gefärbte Randschicht habe ich nur noch bei Pikrokarmin beobachtet, alle anderen untersuchten Indikatoren ließen eine sichtbare Zerlegung auch bei stärkerer Vergrößerung vermissen. Die Randschicht trat auch immer nur am Seitenrand auf, niemals an der Oberfläche gegen den Beschauer.

Die eingehendsten Versuche quantitativer Art über das Zurückbleiben von Säuren in Fließpapier verdanken wir H. Schmidt (Düsseldorf)[1]. Nachdem die Tatsache selbst durch Goppelsroeder und einen amerikanischen Autor Lloyd vor etwa 40 Jahren sichergestellt worden war, hat Schmidt das Aufsteigen der Säure genau gemessen und analysiert und empirische Formeln daraus abgeleitet. Wie es die herrschende Methodik fordert, beschrieb er die Tatsache, daß die Säure zurückbleibt, nicht an sich, sondern er nimmt Säure und H-Ionen als ganz identisch an und spricht immer nur vom Aufstieg der H-Ionen, während er im saueren Teil des Streifens in Wirklichkeit nur die Reaktionen der Cl-Ionen vorgefunden hat. So entging ihm, der sich mit diesem Problem genauer und gründlicher befaßt hat als andere, die wichtige allgemeine Regel, daß sowohl die zur Anode wandernden Ionen als die zur Anode wandernden Kolloide an genau denselben charakteristischen Stellen des Papiers sich vorfinden. Wenn man die Literatur nach dieser Richtung durchsieht, so begegnet man auf Schritt und Tritt Beschreibungen von

[1]) Schmidt, Kolloid-Zeitschr. 24, 49. 1919.

Experimenten, in denen die H-Ionen und die OH-Ionen aus allen Regeln herausfallen. Michaelis selber sieht sich genötigt, hie und da zu konstatieren, daß das Wasserstoffion, das seiner chemischen Natur nach — wie er selbst hervorhebt —, den reaktionsträgeren Edelmetallionen, etwa dem Goldion ähnlich sein müßte, ganz überraschende starke Wirkungen hervorbringt. Oder er findet gemeinsam mit Rona, daß H- und OH-Ionen viel stärker adsorbiert werden als andere Ionen. Bei der Adsorption an Tierkohle handelt es sich aber, wie aus den Erfahrungen derselben Autoren mit Teerfarben hervorgeht, ebenso wie in dem Beispiel von Schmidt, um eine ganz allgemeine Erscheinung. Es werden die am stärksten geladenen Ionen ebenso wie die am stärksten geladenen Kolloide in besonderem Maße adsorbiert und das, woran wir die Stärke einer Säure oder Base experimentell messen, sind keineswegs ihre Wasserstoff- oder Hydroxylionen, sondern ihre elektrische Ladung gegenüber der Normalelektrode. Einem anderen Autor, Pappada[1]), fällt es auf, daß von allen einwertigen Ionen eigentlich das Wasserstoffion Kieselsäure am stärksten koagulieren müßte. Gerade Säuren jedoch lösen die koagulierte Kieselsäure auf. Solche Paradoxien des Wasserstoffions, beschrieben von seinen Anhängern, ließen sich zahlreiche aufzählen. Dieses Ion, wie es gegenwärtig dargestellt wird, widerspricht allen Regeln der Elektrostatik, des periodischen Systems der chemischen Elemente und der Adsorption, und ebenso das Hydroxylion.

Wir haben gesehen, daß an den capillaren Grenzflächen von Kohle, Glas, Papier, Baumwolle, Albumin, Gelatine gegen Wasser eine positive Ladung des Stoffes mit höherer Dielektrizität, des Wassers in diesem Falle, in Erscheinung tritt und daß es zunächst zu allermindest überflüssig ist, bei solchen Anlässen die Hypothese einer Gelatinesäure oder einer Eiweißsäure in stöchiometrischer Verbindung mit Wasserstoffionen aufzustellen. Wir dürfen erwarten, daß beim Eindiffundieren von Kolloiden niedrigerer Dielektrizitätskonstante in Wasser die umgekehrte Erscheinung eintritt. Solche Versuche hat Vanzetti[2]) ausgeführt, ebenfalls ein Bekenner der Wasserstoffionenlehre, der kolloide Farbstoffe, Lackmus, Phenolphthalin in vorsichtig darüber geschichtetes destilliertes Wasser aufsteigen ließ (also der umgekehrte Filtrierpapierversuch mit dem stärkeren Dielektrikum oben); hierbei ging die Anodenfarbe des Indikators voraus. Vanzetti hat sich nicht mit der Indikatorfarbe begnügt, sondern die vorauswandernden Schichten vorsichtig abgehebert und analysiert. Hierbei fand er, wenn er unten Eisenchlorid gegeben hatte, in der Säurefarbenschicht nur Cl-Ionen, bei Kupfersulfat nur Sulfationen,

---

[1]) Pappada, Kolloid-Zeitschr. 9, 270. 1911.

[2]) Vanzetti, Kolloid-Zeitschr. 9, 55. 1911.

obzwar er nach der gegenwärtig üblichen Auslegung der Wasserstoffionenhypothese dort positive Ionen hätte finden müssen.

Der dielektrische Faktor der Eiweißbindung.

Für die Biochemie am wichtigsten ist die Herausarbeitung des elektrostatischen Faktors bei Verbindungen oder Adsorptionen vom Typus der Proteine. Die große Mehrzahl der Biochemiker sieht im Eiweißmolekül zunächst ein mit den Denkmitteln der Salzchemie vorgestelltes riesiges Ion. Einige von ihnen verknüpfen diese Vorstellung mit P. Ehrlichs Gedanken, der Seitenketten, indem sie annehmen, daß einzelne Aminosäuregruppen gleichsam aus der großen Eiweißkugel herausragen und daß diese von Na- oder H-Ionen abgesättigt werden können, wie das Säureanion eines Salzes, eventuell mit Gruppen von Giften, Farben, Arzneistoffen, chemische Verbindungen von Salzcharakter eingehen können. Wenn man diesem Problem experimentell nachgeht, was seit Ehrlich zahlreiche Konstitutionschemiker in sehr gründlichen Arbeiten getan haben, so lassen sich wohl unter ganz besonderen Anstrengungen einige Verbindungen von Proteinen mit einfachen Ionen in reproduzierbaren konstanten Mengenverhältnissen herstellen, nicht aber Verbindungen von Biokolloiden mit anderen Kolloiden. Die eingehendsten Versuche auf diesem Gebiete rühren von Werner Schulemann[1]) her, der als sehr eifriger Ehrlich - Anhänger 1912[2]) nach Untersuchung von annähernd 100 Farbstoffen in ihrer Ablagerung auf charakteristischen Zellelementen sich energisch bemüht hat, die gewonnenen Resultate in ein System der haptophoren Gruppen Ehrlichs einzuordnen, was ihm schon damals einige Schwierigkeiten bereitete, die er aber zu überwinden suchte. Im weiteren Verlaufe seiner Untersuchungen, bei denen er 500 Farbstoffe injizierte, darunter Verbindungen entgegengesetzten chemischen Baues, saure und basische, nichtkolloide und kolloide, später auch Metallkolloide, Tusche, Bakterien und dergleichen kam er allmählich zu der entschiedenen Feststellung, daß der Chemismus der Farben gegenüber ihrer elektrischen Wanderungsrichtung zurücktreten müsse. Das einzig gemeinsame, das die Farbstoffe mit Metallsuspensionen und Tusche hatten, war ihr Wande-

[1]) W. Schulemann, diese Zeitschr. 80. 1917.

[2]) Schulemann, Arch. f. Pharmacie 250. 1912.

rungssinn zur Anode. Schulemann wurde damit zum ersten Entdecker der Anoden des Tierkörpers.

Wer sich mit diesem Problem gedanklich und experimentell beschäftigt — und früher oder später wird sich jeder Biologe mit diesem Gegenstand beschäftigen müssen — der wird unbedingt die Erfahrungen Schulemanns und die meinigen von neuem machen. Man fühlt sich, wenn man das überwältigende Tatsachenmaterial vor Augen hat, zu dem entgegengesetzten Irrtum der herrschenden Richtung gedrängt, daß Kolloide von einer gewissen Größe überhaupt nicht mehr chemisch reagieren können und daß die chemischen Reaktionen, die im Laboratorium und in der Technik mit Kolloiden vorgenommen werden, z. B. die meisten Eingriffe in der Teerfarbenindustrie, oder jene beim Nitrieren von Baumwolle deshalb mit so starken Reagentien arbeiten, weil vorerst das große Kolloidkorpuskel in kleinere, chemisch reaktionsfähige Trümmer zerschlagen werden muß, bevor eine neue chemische Verbindung entstehen kann. Dem ist aber nicht so. Wahrscheinlich wirken starke Reagentien (im elektrostatischen Sinn stark geladene Ionen) direkt auf die großen Kolloidmoleküle ein; besonders klar ist dies bei Stoffen vom Typus Cellulose, Stärke, Eisenhydroxyd, Metallsolen, weil diese wohl ungeheuer große Moleküle bilden, die aber aus ganz gleichartigen Atomgruppen bestehen, so daß eine einheitliche Wirkung nach außen im chemischen Sinne (ohne die Mitwirkung des dielektrischen Oberflächenpotentials) gut vorstellbar ist. Diejenige Wirkung, die wir als chemische bezeichnen, die Ionenattraktion reicht allerdings kaum über einen Aktionsradius von 10^{-7} cm hinaus, also etwa eine Größenordnung weiter als der Durchmesser der gewöhnlichen Ionen beträgt (10^{-8} cm) und der gewöhnlich nach Angström-Einheiten gemessen wird. Dies ist eine Erfahrungstatsache bei den wässerigen Lösungen, die aus dem Coulombschen Gesetz der elektrostatischen Anziehung und Abstoßung auch rechnerisch begründet worden ist.

Das Eiweißmolekül, das rund das 50fache seiner linearen Dimension Wassermoleküle enthält, ist aber wohl das ungeeignetste Objekt für jene chemischen Verbindungshypothesen, die ihm in reichstem Maße gewidmet worden sind. Man scheint sich dieses Molekül, wenn es sein Quellungswasser voll in sich hat und klar gelöst ist, als eine Art Schleierkugel vorzustellen, die im

Wasser schwimmt, etwa so wie es im Ultramikroskop erscheint. Mir erscheint es ungefähr ebenso, aber nicht aus einer kontinuierlichen Eiweißmasse bestehend, sondern aus einzelnen Atomen, die nicht eine Wasserhülle tragen, J. Loebs „jackett', sondern das Wasser zwischen seinen einzelnen Bausteinen guerickistisch angezogen halten. Seine Basen- und Säuregruppen, seine „Seitenketten" gehen ebenso nach innen wie nach außen, die Wahrscheinlichkeit, daß eine bestimmte Atomgruppe des Eiweißes bei diesem Riesenmolekül nach außen hervorragt, ist vielleicht 1 : 1000, die Wahrscheinlichkeit jedoch, daß dieses Molekül auf einem anderen bis auf ionenwirksame Nähe (10^{-7} cm) begegnet und daß bei dieser Begegnung gerade die Amboceptorgruppe des einen Eiweißmoleküls genau in den entgegengesetzt herausragenden Arm der Seitenkette des anderen Moleküls einschnappen kann, ist weniger als ein Billionstel. Es ist kein Zufall, daß solche Seitenketten, Ehrlichs „haptophore Gruppen", trotz intensivster und andauerndster Forscherarbeit niemals entdeckt wurden. Sie können unmöglich existieren und sie können mit anderen Gegengruppen nicht zusammentreffen, wenn sie existieren würden. In die Größe der sichtbaren Welt übertragen, verlangt man von einem Meer mit Milliarden schwimmender Montblancs, daß diese gerade mit einem winzig kleinen in diesem Vergleich hausgroßen Apparat ineinanderschnappen, der sich fast immer im Innern der riesigen Berge verstecken wird.

So schwer sich dies auch mit den spezifischen Wirkungen der eiweißabbauenden Fermente vereinigen läßt, so unbezweifelbar bleibt es doch, daß Einwirkungen auf solche Moleküle nur von Oberflächenkräften ausgehen können, wobei in Betracht gezogen werden muß, daß die hydrophilen biologischen Kolloide allerdings eine sehr große Oberfläche haben, eine innere sowohl wie eine äußere, eine radiale sowohl wie eine tangentiale. An dieser Fläche setzen die elektrostatischen Kräfte an, welche die Bewegung der Korpuskel verursachen.

Elektrostatische Wasserbewegung.

Das Wort guerickistisch ist deshalb besser als die Bezeichnung elektrostatisch, weil es die häufige Verwechslung mit dem Galvanismus unmöglich macht, dann aber auch, weil das Wort statisch schon eine Definition enthält, die unzweckmäßig ist. Man müßte,

meines Erachtens die Bezeichnung „Guerickismus“ auf alle elektrischen Erscheinungen ausdehnen, nicht nur auf die vollkommen statischen, ruhenden, sondern auch auf die langsam bewegten Ionenwanderungen, denen das menschliche Auge folgen kann, mit einem Worte auf alle Vorgänge. die mit dem statischen Elektrometer nachgemessen werden können. Gewisse Streitpunkte, die in der Physiologie zu langen Kontroversen Anlaß gegeben haben, z. B. die Frage, ob die Reizleitung im Nerv und Muskel noch elektrisch sei, weil die „Elektrizität“ sich mit Lichtgeschwindigkeit bewegt, würden überhaupt kaum aufgetaucht sein, wenn man Boltzmanns Terminologie angenommen hätte.

Wir wollen nun betrachten, ob sich ein guerickistischer Faktor bei der organischen Wasserbewegung wahrscheinlich machen läßt, was unter anderen von Nathansohn schon früher versucht worden ist. Eine große Reihe von Beobachtungen scheint mit diesem Gedanken gut übereinzustimmen. Ich habe schon immer — zuerst nur aus physiologischen Gründen — im Fundus des Magens Anoden, im Lumenrand der Pankreasdrüsen Kathoden vermutet. Tatsächlich ergaben die Tinktionen mit Unnas R.W in den Hauptzellen des Magens Anoden, im Lumenrand des Pankreas mit Macallums „Kaliumreagens“, das in Wirklichkeit ein Kathodenreagens ist, starke Kathoden. (Die Granula der Pankreasdrüse sind dagegen Anoden.) Das Coehnsche Gesetz der Dielektrika fordert, daß die Wasserbewegung von der Anode zur Kathode geht. Es stimmt also in der Richtung der Wasserbewegung beim Magen, bei den ebenfalls sich anodisch färbenden Schweißdrüsen, beim Glomerulus der Niere, ebenso im umgekehrten Sinne beim kathodisch sich färbenden, Wasser resorbierenden Darmepithel, bei dem ebenfalls als Resorptionsorgan für Wasser vermuteten Epithel der gewundenen Nierenkanälchen, beim Wasserstrom der Pflanze von der auffallend anodischen Wurzel zum stark kathodischen Blatt, dagegen nicht bei der Pankreasdrüse, welche — abgesehen von ihrer histologischen Färbung mit Kathodenreagentien — ohne eine stark kathodische Ladung ganz unmöglich ihre großen Alkalimengen produzieren könnte. Bei Versuchen, die Polarisation des Pankreas mit dem Galvanometer zu messen, zeigte sich dieses ebenfalls regelmäßig negativ geladen. Und trotzdem sezerniert es während seiner

Tätigkeit sehr erhebliche Wassermengen in der umgekehrten Richtung seines dielektrischen Gefälles!

Auch in anderen Drüsen des Körpers, die zugleich alkalisch reagierende Stoffe und Wasser sezernieren, z. B. in den serösen Speicheldrüsen, tritt dieser Widerspruch hervor, wenn auch nicht so auffällig wie beim Pankreas.

Ein anderer Widerspruch gegen die hier vertretene Auffassung der Richtung gebenden Stärke der dielektrischen Oberflächenladung ist die Tatsache, daß Fett- oder Fettsäureemulsionen, die anodisch wandern sollten, mitsamt dem entgegengesetzt geladenen Wasser vom Darm in das Darmepithel eindringen. Dagegen ist bei den Farbstoffkolloiden, deren Wanderung so leicht verfolgt werden kann, die Übereinstimmung zwischen biologischem Objekt, Wanderung in Fließpapier und Wanderung in Strom eine vollkommene, ebenso die Umkehrung der Wanderungsrichtung und Tinktion bei denselben anodischen Farbstoffen in einem Lösungsmittel von niederer Dielektrizitätskonstante, ganz gleich, ob der Farbstoff sauer oder basisch ist. Das basische Toluidinblau oder das basische Gentianaviolett im Wasser färbt die Testobjekte ebenso wie das saure Aurantia oder die Pikrinsäure im Pikrokarmin, weil alle diese Farben zur Anode wandern. Ebenso ist es mit den basischen Farben und Lacken.

Daß die Dielektrizitätskonstante des Lösungsmittels von grundlegender Bedeutung für seine Ionisierungskraft ist, weiß man seit langem. Nernst, dem die physikalische Chemie so viel Fundamentales verdankt, ist auch der Urheber dieses Gedankens, den er in den 90er Jahren zuerst ausgesprochen hat. Hierauf hat P. Walden[1]) in 20jähriger ausgedehnter Experimentalarbeit diese Gesetze quantitativ bestätigt und eine ganze Reihe neuer interessanter Beobachtungen über die Wichtigkeit der Dielektrizitätskonstante des Lösungsmittels daran geknüpft, aus denen hervorgeht, daß die chemische Reaktionsfähigkeit, die ihrerseits von der Ionisierung abhängt, auf der Dielektrizitätskonstante basiert. Die hier begonnenen Untersuchungen sollen dartun, daß auch die Dielektrizitätskonstante des Gelösten eine erhebliche Bedeutung besitzt und daß namentlich eine Untersuchung der Bewegung der Biokolloide ohne die Kenntnis dieser Konstanten unmöglich ist, da sie bei einer gewissen Größe der Mole-

[1]) Walden, Zeitschr. f. physikal. Chemie 94, H. 3. 1920.

küle von größerer Bedeutung ist als die innere chemische Konstitution des Moleküls und vielleicht auch schon bei Salzen stärkere Einflüsse ausübt, als wir heute glauben. Der große Unterschied zwischen den chemischen Reaktionen derselben Körper in kleineren oder größeren Korpuskeln, oder in feinerer oder gröberer Dispersion, wie sie in der Kolloidchemie genannt wird, ist schon früher empirisch aufgefallen und von zwei Forschern, P. P. von Weimarn und Wolfg. Ostwald, die sich damit in Gegensatz zu der herrschenden Meinung stellten, immer wieder hervorgehoben worden. Es hat den Anschein, als ob das dielektrische Gefälle der Oberflächen einer der Hauptgründe dieser Verschiedenheit ist und zur Folge hat, daß größere Moleküle immer überwiegend physikalisch, nicht chemisch reagieren, so daß die Kolloidchemie, deren stöchiometrische Resultate bis jetzt nahezu Null sind, mit vielleicht mehr Recht Kolloidphysik heißen sollte.

Ältere Untersuchungen.

Es seien noch, ohne Anspruch auf Vollständigkeit, eine Reihe von in der älteren Literatur verstreuten Mitteilungen angeführt, die von ihren Entdeckern als Paradoxien beschrieben wurden, während sie die dielektrische Regel Coehns so und nicht anders verlangt. Von den schönen Versuchen Vanzettis, der gerade die „langsameren" Ionen ins reine Wasser voraneilen läßt, war schon die Rede, die weiter angeführte Tatsache, daß die Oberflächenrandschichten von wässerigen Lösungen gegen Dielektrica, gegen feste Gefäße, gegen Luft, gegen Suspensionen Unstetigkeiten, fast immer Verdichtungen und Annäherungen an den festen Zustand aufweisen, ist eine bekannte Tatsache, die aller Welt vertraut ist und wahrscheinlich nicht bloß auf dielektrische Ursachen zurückzuführen ist. In Freundlichs „Capillarchemie", in Traubes bekannten Versuchen sind diese Tatsachen ausführlich beschrieben. Eine Literaturzusammenstellung über die Randschichten in porösen Tontellern, Erde, Kieselgur, Glaspulver findet sich in einem kürzlich erschienenen sehr interessanten Aufsatz von Bechhold[1]), in welchem das Wort Dielektrikum wohl nicht vorkommt, aber lauter poröse Stoffe aufgezählt werden, deren Dielektrizitätskonstanten sehr nahe beieinanderliegen.

Dem technischen Chemiker Dreaper (London)[2]) fällt es auf, daß beim technischen Färben, Beizen, Gerben, daß ferner Baumwolle, tierische Haut, Sandfilter die verschiedensten Farbstoffe und Beizen nach denselben Gesetzen aufnehmen. Er vermutete bereits eine Elektro-Osmose und nennt sie wegen ihrer unipolaren (guerickistischen) Anordnung zur Unterscheidung von der Kataphorese „Autophorese". In einer Studie Deventers „Galv.

[1]) Bechhold, Kolloid-Zeitschr. 27, 229. 1920.

[2]) Dreaper, Kolloid-Zeitschr. 8, 253. 1911.

Veredlung von Metallen"[1]) über die Umkehr des Potentials chemischer Elemente in Alkohol, wobei weniger edle Metalle zum Edelpol werden, wird gezeigt, daß eine Alkohol-Wassermischung das Potential um mehr als ein Volt verschieben kann. Es ist klar, daß der niedrig dielektrische Alkohol die Wanderungsrichtung gewisser Partikelchen im Strom einfach umgekehrt hat. Daß Platinsol im Alkohol aller Erwartung entgegen kathodisch wandert, findet sich schon in Freundlichs „Capillarchemie" beschrieben, für Blei, Eisen, Zinn, Kupfer hat die Positivität der Metallkolloide im Alkohol der Italiener Pappadà zu seiner größten Verwunderung nach Burton beschrieben[2]). Ebenso findet Arthur Müller, ebenfalls ein Anhänger der H-Ionen, daß das Sol der Wolframsäure in Alkohol merkwürdigerweise positiv wird. Er meint, daß die H-Ionen das Sol positiv laden, K. Reichert, ein Bakteriologe, der sich mit Beizungsexperimenten beschäftigt hat[3]), findet, daß die Adsorption von Beizen und Farben durch die Geißeln lebender Bakterien auf eine negativ elektrische Ladung der Protoplasmahydrosole zurückgeführt werden muß.

Besonders die Beobachtungen der Kolloidforscher aus den älteren Jahrgängen der „Kolloid-Zeitschrift" sind eine wahre Fundgrube von dielektrischen Erscheinungen, beschrieben von Nichtdielektrikern. Man hatte vor 10 Jahren noch nicht so viele Hypothesen und Schemen wie heute, man erkannte nur, daß Korpuskeln von einer gewissen Größenordnung aufwärts merkwürdige Erscheinungen zeigten, die von der bloßen Molekular- und Ionenchemie als Anomalien empfunden wurden und man beschrieb diese Tatsachen so, wie man sie auffand, ohne sie an der Hand von molekularchemischen oder ionenchemischen Hypothesen umzurechnen. Nur noch ein Beispiel sei nach der Arbeit des holländischen Forschers Beijerinck zitiert[4]), welcher Gelatinegallerten verschiedener Konzentration durch einen ebenen Schnitt aneinander preßte, um zwischen einer 20 proz. und einer 2 proz. Gallerte ein Quellungsgleichgewicht zu erzeugen. Es zeigten nun beide anfangs isotrope Gelatinegallerten Doppelbrechung, und zwar die eine im polarisierten Licht eine positive, die andere eine negative. Wir wissen jetzt aus der dielektrischen Oberflächenladung von Gelatine gegen Wasser, daß nach dem elektrooptischen, von Kerr (1875) entdeckten Grundsatz der elektrostatischen Doppelbrechung bei der wasseraufnehmenden Gelatinegallerte die entgegengesetzte Doppelbrechung der wasserabgebenden Gallerte erwartet werden mußte.

Aus diesen Hinweisen wird man wohl entnehmen, daß die guerickistische Oberflächenladung an den Grenzflächen Kolloid-Wasser, Kolloid-Fett, Kolloid-Luft ein Faktor ist, der bis jetzt noch nicht jene Beachtung gefunden hat, die er verdient. Es sei besonders hingewiesen auf die sehr niedrige Dielektrizitäts-

[1]) van Deventer, Zeitschr. f. physikal. Chemie **91**, 694. 1912.

[2]) Pappada, Kolloid-Zeitschr. **9**, 270. 1911.

[3]) Reichert, Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. Abt. 51, H. 1. 1911.

[4]) Beijerinck, Kolloid-Zeitschr. **7**, 20. 1910.

konstante des hochkolloiden Farbstoffes Nachtblau, der technisch durch Aussalzen gewonnen wird und der in dem gewöhnlichen unreinen Zustande untersucht wurde. Wir wollen diese Ziffer noch nicht als endgültig betrachten. Über die Rolle elektrolytischer Verunreinigungen auf Kolloid-Dielektrizitätskonstanten können erst spätere Versuche Klarheit bringen. Auch das verwendete Casein war nicht chemisch rein. Bemerkenswert sind die dielektrischen Verhältnisse des Harnstoffs, der chemisch rein untersucht wurde. Dieser fällt in Landolt-Börnsteins Tabellen dadurch auf, daß er bei sehr niedriger eigener Dielektrizitätskonstante die Dielektrizitätskonstante des Wassers unerwarteterweise stark erhöht. Diese Tatsache konnte bestätigt werden, wobei sich eine genaue Übereinstimmung mit den vorliegenden älteren Ziffern ergab. Nun verhält sich der Harnstoff im Organismus ganz eigenartig. Während alle anderen Nichtleiter von der Glomerulusmembran der normalen Niere im Blut zurückgehalten werden, beispielsweise Bruchteile von Prozenten Glucose, wird, wie jeder weiß, Harnstoff im Harn angereichert, während er im Blute nur in geringem Prozentsatz vorhanden zu sein pflegt. Die dielektrischen Eigenschaften des Harnstoffes stehen möglicherweise mit diesem paradoxen Wanderungssinn in einem Zusammenhang.

Zusammenfassung.

1. Die gewöhnlich als elektrostatisch bezeichneten Erscheinungen sollten zur schärferen Unterscheidung von den geläufigen galvanischen dem Vorschlage Boltzmanns und Coehns entsprechend als guerickistische Erscheinungen bezeichnet werden.

2. Die elektrostatische Oberflächenladung der Kolloide scheint der stärkste Faktor der biochemischen Stofftransporte zu sein; sie ist jedenfalls eine Hauptursache der Vitalfärbung mit Farbstoffen, Tierkohle, Metallkolloiden usw.

3. Das Coehnsche Ladungsgesetz der Dielektrika ist ein biochemisches Grundgesetz; die dielektrischen Konstanten der Biokolloide sind Fundamentaleigenschaften der lebenden Gewebe. Es wird begonnen mit der Bestimmung der Dielektrizitätskonstante der wichtigsten Biokolloide, einiger Farbstoffe und Körperkolloide.

4. Der isoelektrische Punkt der Körperkolloide enthält ebenfalls einen dielektrischen Hauptfaktor und dürfte bisweilen nur

der Differenz der Dielektrizitätskonstanten seine Existenz verdanken, bisweilen aber auch durch chemische Konstitutionsursachen mitbedingt sein.

5. Die Ionentheorie hat ihre Wirkungsgrenze bei Korpuskeln von etwa 10^{-7} cm Durchmesser. Die Proteine sind keine Säuren, sondern chemisch nahezu neutral, ihre Verbindungen mit Alkali haben keinen Salzcharakter.

6. Die von der herrschenden Methodik geübte Anwendung der Wasserstoffionenkonzentrationshypothese ist unrichtig — selbst im Sinne der Urheber dieser Hypothese.

7. Die guerickistische Oberflächenladung dürfte bei der Aufnahme von Nahrungskolloiden durch die Zelle an dem Transport beteiligt sein, wahrscheinlich auch an manchen Wasserbewegungen.

8. Das Eiweißmolekül und andere Korpuskeln dieser Größenordnung dürfte nur selten chemisch, sondern nahezu ausschließlich guerickistisch, das heißt durch elektrostatische Grenzflächenladung Adsorptionsverbindungen eingehen. Das Vermögen der chemischen im Verhältnis zur dielektrischen Oberflächenbindung scheint stetig von kleineren zu größeren Molekülen abzunehmen und bei ganz großen Kolloidkomplexen z.B. Cellulosefasern nahezu Null zu werden.

Zum Verhalten des Formaldehyds im Tierkörper.

Von

E. Salkowski.

(Aus der chemischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 11. Januar 1921.)

Vor einigen Jahren hat Fr. Simon[1]) gelegentlich seiner in derselben Abteilung ausgeführten Versuche über formaldehydschwefligsaures Natrium, die er auch auf den Formaldehyd selbst ausdehnte, gefunden, daß Formaldehyd auffallend schnell aus dem Blut verschwindet. Er sagt darüber: „Aus Tabelle II . . . geht hervor, daß nach intravenöser Einführung reinen Formaldehyds in einer Dosis von 0,089 g pro kg Körpergewicht, dieser im Blute eines der Injektion fast unmittelbar darauf erlegenen Kaninchens noch deutlich nachweisbar ist, jedoch bereits vermißt wurde, wenn 0,048 g pro kg verabreicht wurden und das Tier die Einspritzung auch nur 7 Minuten lang überlebte; aber auch weit größere Mengen (0,25 g pro kg) per os eingegebenen Formaldehyds waren 24 Stunden später aus dem Blute spurlos verschwunden."

Dieser Befund war nun deswegen auffallend, weil Formaldehyd, wie bekannt, kaum in den Harn übergeht, und ich gelegentlich beobachtet hatte, daß Formaldehyd außerhalb des Organismus keineswegs rasch aus dem Blut verschwindet, wenn man ihn in wässriger Lösung zugesetzt hat. Mein Urteil gründet sich allerdings auf ein anderes Verfahren, nämlich die Isolierung durch Destillation, während Simon zum Nachweis das definierte Blut nach dem Ansäuern mit Essigsäure mit Äther ausgeschüttelt, dann den Formaldehyd durch Schütteln mit Wasser in dieses übergeführt hatte. Man kann sich wohl vorstellen, daß der so reaktionsfähige Formaldehyd durch irgendwelche Blutbestandteile gebunden und dadurch dem Übergang in dem Äther ent-

[1]) Diese Zeitschr. 65, 87 (1919).

gangen sein könnte, aber der von Simon angestellte Kontrollversuch ergab, daß 0,00815 g Formaldehyd aus 25 ccm Blut noch sehr gut auf diesem Wege isoliert und nachgewiesen werden konnte.

Es schien mir, um womöglich zu einer Aufklärung zu kommen, von Interesse, den Einfluß der beiden Faktoren zu untersuchen, welche bei der Einwirkung des Blutes auf Formaldehyd zunächst in Betracht kommen, nämlich des Alkalis und des Eiweißes.

I. Die Einwirkung von Alkali auf wässerige Formaldehydlösung.

Ob eine wässerige Formaldehydlösung durch Zusatz von einem Alkali eine Änderung der Konzentration erfährt, kann natürlich nur durch quantitative Bestimmung des Formaldehyds vor und nach der Einwirkung des Alkalis ermittelt werden. Die quantitative Bestimmung geschah, wie vielfach schon in früher von mir ausgeführten Versuchen[1]) nach dem Verfahren von Rominij[2]) durch Zusatz einer abgemessenen Menge von $^{n}/_{10}$-Jodlösung und Zurücktitrieren mit $^{n}/_{10}$-Thiosulfatlösung. Dabei sind einige Kautelen einzuhalten, so die annähernde Innehaltung des Volumens der zu titrierenden Lösung mit dem bei der Titerstellung benützten, die Titerstellung unmittelbar vor dem Gebrauch, obwohl dieses nach meinen Erfahrungen nicht so wichtig ist, wie vielfach angenommen wird, da die einmal konstant gewordene Thiosulfatlösung ihren Gehalt lange Zeit unverändert behält[3]). Es empfiehlt sich außerdem nach Beendigung der Bestimmung einen Tropfen der gebrauchten $^{n}/_{10}$-Jodlösung hinzuzusetzen, um festzustellen, daß kein Überschuß von Thiosulfat angewendet worden ist. Wo es sich um rein wässerige Lösungen handelt, kann man die betreffende Lösung nach der Einwirkung der Natronlauge direkt mit Salzsäure ansäuern und titrieren. Hiervon habe ich aber aus Gründen, die sich später ergeben werden, nur in den seltensten Fällen Gebrauch machen können, der Regel nach wurde der Formaldehyd durch Destillieren der Lösung isoliert. Formaldehyd gehört nun zu den schwer flüchtigen Körpern, und es fragt sich, welches Verfahren vollständige Sicherheit nach dieser

---

[1]) Diese Zeitschrift 71, 374. 1915.

[2]) Zeitschr. f. analyt. Chem. 36, 18. 1897.

[3]) Vgl. Treadwell, Quant. Analyse. 4. Aufl., S. 496.

Richtung hin bietet. Durch zahlreiche Versuche habe ich mich überzeugt, daß es bei Lösungen von 0,5% oder etwas darüber genügt, wenn man die mit einigen Tropfen verdünnte Schwefelsäure angesäuerte Lösung aus einem Kolben mit Glasschliff möglichst weit abdestilliert, dann eine dem Volumen des Destillats gleiche Quantität Wasser hinzusetzt und nochmals destilliert, eine einmalige Destillation reicht unter keinen Umständen aus. Auch die vorstehenden Angaben beziehen sich nur auf reine Lösungen. Sobald dieselben Eiweißkörper enthalten, ist eine dritte Destillation erforderlich. Zweckmäßig ist es, nach Beendigung des Versuches sich zu überzeugen — am besten durch die Reaktion nach Schrywer mit Phenylhydrazin, Ferricyankalium und Natronlauge oder Salzsäure — daß in dem Destillationsrückstand kein Formaldehyd mehr enthalten ist oder nur minimalste, quantitativ nicht bestimmbare Spuren. Es empfiehlt sich übrigens, die Probe nach Zusatz der beiden ersten Substanzen zu teilen und die eine Hälfte mit Natronlauge, die andere mit Salzsäure zu versetzen. Es erübrigt sich wohl, Belege für die obigen Angaben mitzuteilen; ich möchte nur einen Versuch anführen, welcher zeigt, wie erhebliche Mengen Formaldehyd selbst aus dünnen Lösungen bei einmaliger Destillation im Rückstand bleiben können. Von einer Lösung, die 0,153 g Formaldehyd in 200 ccm enthielt, gingen bei der ersten Destillation nur 0,1224 g = 80% des vorhandenen über, bei der zweiten Destillation 0,0302, zusammen also 0,1526 g = 99,74%. Eine so genaue Übereinstimmung wird man natürlich nicht immer erwarten können, dabei ist der Zufall im Spiele.

Von O. Löw[1]) rührt die grundlegende Entdeckung her, daß durch Einwirkung von Ätzalkalien auf Formaldehydlösung in der Kälte oder bei gelinder Erwärmung durch Kondensation ein Kohlenhydrat — man kann wohl sagen — ein Zucker entsteht, von ihm Formose genannt, unter Umständen auch Ameisensäure und Methylalkohol. Bezüglich der Abhängigkeit der Einwirkung von der Natur des Alkalis ist Löw zu sehr interessanten, auffallenderweise wenig beachteten Resultaten gelangt, von denen ein Beispiel hier angeführt werden mag. Äquimolekulare Lösungen

---

[1]) Journ. f. prakt. Chemie **33**, 321 (zitiert nach dem Referat in den Ber. d. d. chem. Ges. 19, III, 343); ferner Ber. **20**, 141; **21**, 271 und 718; Ber. **22**, 271. — Auf die Natur des Zuckers und die daran sich knüpfende Diskussion gehe ich nicht ein.

von Calciumhydrat und Bariumhydrat haben eine ganz verschiedene Einwirkung auf Formaldehyd. Erwärmt man Kalkwasser mit Formaldehyd auf dem Wasserbad, so ist nach 24 Minuten ein kleiner Teil des Formaldehyds zu Ameisensäure und Methylalkohol umgewandelt, ein weit größerer Teil in Formose, welche allerdings bei dieser Temperatur unter Braunfärbung weiter verändert wurde; beim Barytwasser war dagegen bald neutrale Reaktion eingetreten und keine Spur Zucker gebildet, der größte Teil des Formaldehyds erwies sich noch nach 2 Stunden unverändert.

Auf die Einwirkung von kohlensauren Alkalien ist Löw meines Wissens nicht eingegangen und es liegen auch von anderer Seite, soviel ich weiß, keine Angaben darüber vor. Destilliert man Formaldehydlösungen mit einem Gehalt von 1% Na_2CO_3, so geht in das Destillat, nur sehr wenig Formaldehyd über. Man könnte danach annehmen, daß der Formaldehyd fast ganz zersetzt sei, das ist aber nicht der Fall. Säuert man die rückständige Lösung an und destilliert aufs neue, so enthält das Destillat Formaldehyd. Es wurden z. B. von 150 ccm einer 0,3375 proz. 1% Na_2CO_3 enthaltenden Lösung 122 ccm abdestilliert, der Rückstand im Kolben wurde mit 102 ccm Wasser und 20 ccm verdünnter (20 proz.) Schwefelsäure versetzt und aufs neue 122 ccm abdestilliert. Diese enthielten 0,1171 g Formaldehyd.

Es fragt sich, ob der Formaldehyd auch einer langdauernden Einwirkung von siedender Natriumcarbonatlösung in einer Konzentration, wie sie für das Blut in Betracht kommt, widersteht bzw. in welchem Umfange er widersteht.

Die Versuchsanordnung war folgende: Es wurden stets 200 ccm einer Lösung von wechselndem Gehalt, die 0,5 bzw. 0,25% Na_2CO_3 enthielt, 2 Stunden bei guter Kühlung am Rückflußkühler gekocht, der an seinem oberen Ende einen mit wenig Wasser beschickten Will-Varrentrappschen Absorptionsapparat trug, nach dem Erkalten angesäuert, destilliert und der Formaldehydgehalt im Destillat festgestellt. Das in dem Absorptionsapparat befindliche Wasser enthielt stets etwas, aber sehr wenig, Formaldehyd, in den Versuchen mit größerem Formaldehydgehalt mehr, mit kleinerem weniger. Es konnte zweifelhaft sein, ob man den Inhalt des Absorptionsapparates dem Rückstand hinzufügen sollte oder nicht. In den Versuchen 1—4 habe ich ihn

hinzugefügt, bei den Versuchen mit geringerem Formaldehydgehalt nicht, außer in 5 und 8[1]).

Die folgende Tabelle enthält die gefundenen Werte.

Tabelle I.

Nummer des Versuches	Na_2CO_3 in %	Konzentration der Formaldehydlösung in %	Wiedergefunden in %	Also zerstört in %
1	0,5	3,825	72,16	27,84
2	0,5	1,913	66,73	33,27
3	0,5	0,90	27,0	73,0
4	0,5	0,72	24,8	75,2
5	0,5	0,3825	1,4	98,6
6	0,5	0,3825	1,06	98,4
7	0,5	0,3825	1,91	98,09
8	0,25	0,3825	4,51	95,49
9	0,25	0,1913	6,45	93,55
10	0,25	0,1913	7,0	93,0

Überblickt man die erhaltenen Zahlen, so ergibt sich folgendes:

1. Doppelbestimmungen, soweit sie gemacht sind, stimmen nahe überein.

2. Es macht keinen merklichen Unterschied, ob der Inhalt des Absorptionsapparates berücksichtigt wurde oder nicht.

3. Bei einer Konzentration des Na_2CO_3 von 0,5% ist der zerstörte Anteil prozentisch um so größer, je geringer die Konzentration der Formaldehydlösung, absolut genommen ist das Verhältnis erklärlicherweise umgekehrt; so sind z. B. in Versuch 1 von 7,75 g zum Versuch genommenen Formaldehyd (in 200 ccm) 2,666 g zerstört, in Versuch 2 von 3,825 g 1,316 g.

4. Na_2CO_3 von 0,25% wirkt, wie zu erwarten, schwächer als Lösung von 0,5%.

Bemerkenswert ist 1. das verschiedene Aussehen der mit Na_2CO_3 erhitzten Lösungen und 2. die Bildung von Jodoform beim Titrieren.

[1]) Konzentrierte Formaldehydlösungen wurden zum Zweck der Bestimmung verdünnt und nur ein aliquoter Teil der Destillation unterworfen. Ganz allgemein habe ich der Raumersparnis wegen die Einzelheiten der Versuche nicht angegeben, bzw. nur da, wo dieses zum Zweck des Verständnisses nicht zu umgehen war. Daß ich zum Zweck der Titrierung die betreffenden Lösungen passend verdünnte, ist selbstverständlich, ebenso selbstverständlich, daß hierzu öfters Tastversuche erforderlich waren.

Die Lösungen 1, 2, 3, 4 waren am Ende des Versuches farblos, alle anderen Lösungen mehr oder weniger gebräunt, nur die beiden Lösungen 9 und 10 schwach gelb gefärbt. Die Färbung rührt offenbar von Caramelbildung her, sie war in den beiden letzten Lösungen gering wegen der geringen Quantität des Formaldehyds. Parallel damit geht die Bildung von Jodoform[1]) in dem Destillat nach Zusatz von Jodlösung und Ansäuern. Sie war nur in den Versuchen 5—10 bemerkbar als schleierartige Trübung, in den beiden letzten Lösungen sehr schwach. Was die Ursache der Jodoformbildung betrifft, so ist es wahrscheinlich, daß sie auf einem Gehalt des Destillats an Oxymethylfurol beruht.

Vor längerer Zeit habe ich angegeben[2]), daß beim Destillieren von Zuckerarten, namentlich Rohrzucker bzw. Lävulose mit Säuren ein ketonartiger Körper entsteht, der Jodoformbildung zeigt, eine Erscheinung, die mich namentlich in analytischer Beziehung interessierte, weil sie zu fälschlicher Annahme von Aceton im Harn führen kann bzw. zu Fehlern bei der quantitativen Bestimmung, ja selbst zu falschen Phenolbestimmungen, die in der Tat in der Literatur vorgekommen sind. Nach Alberda van Ekenstein und Blanksma[3]) ist dieser Körper Oxymethylfurol. In der Tat erhielt ich mit den Destillaten aus Zucker alle für dieses angegebenen Reaktionen[4]). Die jodoformbildenden Destillate im vorliegenden Falle gaben indessen nur die Reaktion mit Resorcin + Salzsäure, alle anderen Reaktionen blieben zweifelhaft, vielleicht wegen zu geringer Konzentration des Oxymethylfurol, so daß ich diesen Punkt unentschieden lassen muß.

Bezüglich der aus dem Formaldehyd entstandenen Produkte beschränke ich mich auf einige Bemerkungen. Alle Destillate reagierten sauer und enthielten Ameisensäure, direkt nachweisbar durch die Reaktion mit $HgCl_2$ und $AgNO_3$, bei den stärkeren Konzentrationen natürlich mehr, bei den schwächeren weniger. Bei den geringsten Konzentrationen war die Ameisensäure direkt nicht nachweisbar, sondern sicher erst nach dem Eindampfen

[1]) Die Bildung von Jodoform bedingt natürlich einen kleinen Fehler.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chemie 14, 476. 1890; Arch. f. d. ges. Physiol. 56, 339. 1894.

[3]) Ber. d. d. chem. Ges. 43, 2355. 1910.

[4]) Diese Zeitschr. 68, 341. 1915.

einer nicht gemessenen Quantität des Destillates, die von den Titrierungen noch übriggeblieben war, nach Zusatz von Na_2CO_3 usw.

In allen Fällen, ausgenommen die höchsten Konzentrationen, hatte sich Formose gebildet, durch die Trommersche Probe nachweisbar; öfters zögerte die Ausscheidung von Cu_2O, stellte sich jedoch beim Abstumpfen der alkalischen Reaktion mit Salzsäure ein.

Es fragt sich, ob eine Einwirkung von kohlensaurem Alkali auch bei Körpertemperatur zu beobachten ist. Selbstverständlich muß dieses an sehr dünnen Lösungen versucht werden, da bei diesen am ehesten ein positiver Ausschlag zu erwarten war. Vorher aber mußte festgestellt werden, daß dünne Lösungen ohne Alkali bei Körpertemperatur ihren Gehalt nicht ändern, so unwahrscheinlich dies auch war.

Versuch 1: Es wurde Formalin 10fach verdünnt, von dieser Lösung 10 ccm auf 250 ccm, dann diese Lösung noch einmal 5fach verdünnt. 25 ccm dieser Lösung erforderten 4,90 bzw. 4,93 ccm $^{n}/_{10}$-Jodlösung, sie enthielen also 7,6 bzw. 7,63 mg Formaldehyd. 100—150 ccm wurden digeriert. Nach 24stündiger Digestion bei 40° in gut schließenden Glasstöpselgläsern erforderten 25 ccm nach guter Abkühlung 5,0—4,9—4,9 Jodlösung entsprechend im Mittel 7,6 mg Formaldehyd. Dieselbe Zahl ergab sich nach 48stündiger Digestion.

Versuch 2: Derselben Formaldehydlösung wurde ein Gehalt an Na_2CO_3 von 0,5% gegeben und gleichzeitig mit der wässerigen Lösung 100 ccm digeriert. Der Versuch fiel in demselben Sinne aus. Natriumcarbonat in einer Konzentration von 0,5% ist also bei Körpertemperatur ohne Einwirkung auf Formaldehydlösung und das schnelle Verschwinden des Formaldehyds aus dem Blut nach Einspritzungen beim Tier kann nicht auf die Alkaliwirkung zurückgeführt werden.

II. Die Einwirkung von Eiweiß bzw. Blut auf Formaldehyd.

Das nächste, woran man zur Erklärung des schnellen Verschwindens des Formalins zu denken hatte, war die Bindung an Eiweiß. Bekanntlich hat F. Blum[1]) gefunden, daß Eiweißlösungen durch Zusatz von Formalin ihre Eigenschaft, zu koagulieren, verlieren, sich auch unverändert abdampfen lassen. Blum nimmt an, daß sich dabei Methylenverbindungen des Eiweißes bilden. Diese Verbindungen waren früher unter der Bezeichnung „Protogen" im Handel[2]). Über die etwaige Bindung dabei bis zu dem Grade, daß sich der Formaldehyd nicht nachweisen läßt,

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chemie 22, 127.

[2]) Ob das jetzt noch der Fall ist, ist mir nicht bekannt.

spricht sich Blum, soviel ich sehen kann, nicht aus. Fr. Simon hat indessen, wie oben angegeben, einen Versuch mitgeteilt, aus dem hervorgeht, daß diese Bindung, wenn man die Mischung bald nach der Herstellung untersucht, keine durchaus feste ist. In einer Notiz: „Über die quantitative Bestimmung von Formaldehyd im Blut"[1]) habe ich bereits mitgeteilt, daß, wenn man zu Blut kleine Mengen von Formalin hinzufügt, sich dasselbe durch Destillation der verdauten Mischung nachweisen läßt, gleichzeitig aber ging aus den Versuchen hervor, daß von den in der Mischung vorhandenen 76,4 mg Formaldehyd nur 66,4 bzw. 67,7 mg wiederzufinden waren = 85,7%, während der Rest von etwa 14—15% so fest gebunden ist, daß man ihn unter keinen Umständen wiederfindet. Auch stärkeres Ansäuern ändert nichts daran.

Diesen Versuch habe ich nun genau in derselben Ausführung — betreffs der Ausführung scheint es mir hinreichend, auf die erwähnte Notiz hinzuweisen — wiederholt, diesmal jedoch nur einen Teil der Mischung möglichst bald nach der Herstellung mit künstlichem Magensaft gemischt. einen anderen Teil vorher 24 Stunden im Thermostaten digeriert. Statt der in der Mischung vorhandenen 76,4 mg Formaldehyd wurden nur 46,0 mg wiedergefunden, also 60,23% des vorhandenen. Zieht man in Betracht, daß auch bei der sofortigen Verarbeitung nur 85,7% erhalten wurden und berechnet danach den bei länger dauernder Digestion stattgefundenen Verlust als Folge der Digestion, so ergibt sich dieser zu rund 30%. Es findet also eine allmählich zunehmende Bindung des Formaldehyds an das Eiweiß des Blutes statt, die Reaktion gehört zu den sog. Zeitreaktionen wie manche andere, z. B. die Bildung von Oxalsäureester beim Stehenlassen alkoholischer Lösungen desselben usw. Sind nun an dem Verlust bei der Digestion die körperlichen Elemente des Blutes beteiligt oder kommt nur das Eiweiß als solches in Betracht? Um das zu entscheiden, wäre es natürlich notwendig gewesen, den Gegenversuch mit Blutplasma anzustellen, allein dieses ist zur Zeit in irgend größerer Menge nicht zu beschaffen; für die Frage betreffs des schnellen Verschwindens des Formaldehyds im Tierkörper ist diese Unterscheidung ja zunächst auch gleichgültig, jedenfalls ist es durch die vorliegenden Versuche nicht aufgeklärt worden.

[1]) Diese Zeitschr. 97, 129. 1919.

Es bleibt danach zur Erklärung des Verschwindens kaum eine andere Annahme übrig als die Bindung durch die Organe, an welche der Formaldehyd in größter Verdünnung und feinster Verteilung herantritt. Die große Ausdehnung des Stromgebietes, die große innere Oberfläche der Organe und der immer wieder erneuerte Kontakt des Formaldehyds mit derselben durch die Zirkulation begünstigt augenscheinlich die feste Bindung in den Zellen, in denen er dann allmählich oxydiert wird. Es scheint mir, daß diese Vorstellung das schnelle Verschwinden des Formaldehyds aus der Blutbahn, ohne daß es im Harn erscheint, befriedigend erklärt. Wissen wir doch auch von dem in die Blutbahn gelangten Pepton, daß es gleichfalls schnell aus derselben verschwindet und, wenn seine Menge nicht zu groß ist, nicht in den Harn übertritt, sondern zunächst in den Zellen, namentlich der Leber deponiert und allmählich oxydiert wird. Diese Annahme ließe sich durch Durchströmungsversuche an überlebenden Organen prüfen; derartige Versuche sind aber zur Zeit aus äußeren Gründen, wenigstens hier am Ort, nicht ausführbar.

Von Interesse möchte noch die Frage sein, wie sich das früher im Handel befindliche „Protogen“ verhält. Zufällig stand mir noch eine kleine Quantität desselben zur Verfügung.

200 ccm einer 1 proz. vollkommen klaren und neutralen Lösung wurden mit einigen Tropfen verdünnter Schwefelsäure angesäuert und 150 ccm abdestilliert, und zwar in 2 Anteilen von zuerst 100, dann 50 ccm. In keinem der beiden Anteile war Formaldehyd nachweisbar. Nunmehr wurde der Rückstand im Kolben mit 130 ccm Wasser und 20 ccm verdünnter Schwefelsäure versetzt und wieder davon 100 ccm, dann 50 ccm abdestilliert: das Ergebnis war wiederum ein vollkommen negatives. Dasselbe ergab sich für eine 3 proz. 20 ccm verdünnte Schwefelsäure enthaltende Lösung. Über die technische Herstellung des Protogens, durch welche das angegebene Verhalten anders als durch Bildung einer festen Verbindung erklärt werden könnte, ist meines Wissens in der Literatur nichts bekannt.

Über Harnkolloide und Stalagmone.

Von

Hugo Pribram und **Fritz Eigenberger.**

(Aus der med. Klinik Jaksch der deutschen Universität in Prag.)

(Eingegangen am 12. Januar 1921.)

In einer Reihe von Arbeiten hat der eine von uns (Pribram) sich eingehend mit der Frage der Harnkolloide beschäftigt. Er fand, daß dieselben einerseits serologische Reaktionen, andererseits im Tierversuche verschiedene physiologische Wirkungen hervorzurufen imstande sind, daß sie auf Grund ihres chemischen Verhaltens wahrscheinlich zu den Eiweißabkömmlingen zu rechnen sind, und daß ihre Ausscheidung bei verschiedenen Krankheiten in gesetzmäßiger Weise verändert ist. Unter anderem fand er den Kolloidstickstoff erhöht bei Fieber, Carcinom, bei Leberkrankheiten, oft auch bei Diabetes mellitus. In neuester Zeit hat nun Schemensky, Bechhold und Reiner eine neue Methode angegeben, welche es gestattet, durch Bestimmung der Oberflächenspannung des Harnes ein Urteil über seinen Gehalt an kolloiden Stoffen zu gewinnen. Diese Methode, welche vor den rein chemischen Methoden den Vorteil viel größerer Einfachheit hat, ergibt in vieler Beziehung einen erfreulichen Parallelismus mit unseren früheren Befunden. Es ist zwar klar, daß die durch Wägung der adialysabeln Stoffe und durch Bestimmung ihres Stickstoffes erhaltenen Resultate nicht vollständig analogisiert werden können mit der Bestimmung des Gehaltes des Harnes an Stalagmonen durch Tropfenzählung, immerhin handelt es sich ja doch um Stoffe derselben Kategorie, um Eiweißabkömmlinge von Kolloidcharakter, die das eine Mal durch ihre Eigenschaft, die Oberflächenspannung zu verändern, das andere Mal durch ihre Unfähigkeit zu dialysieren, nachgewiesen und bestimmt werden.

Schemensky fand mit der Oberflächenspannungsbestimmung eine Vermehrung der Stalagmone bei Gravidität, bei Car-

cinom und Infektionskrankheiten. Eine geradezu auffallende Differenz in den Ergebnissen von Schemensky und Pribram liegt jedoch beim Verhalten des Harnes von Zuckerharnruhrkranken vor.

Diese Differenz führte uns dazu, die Methodik Schemenskys nachzuprüfen.

Schemensky geht im Prinzip folgendermaßen vor.

Er bringt den Harn auf eine konstante Dichte (1,010), stalagmometriert ihn, entfernt die Kolloide durch Ausschüttelung mit Tierkohle und stalagmometriert ihn abermals. Aus diesen beiden Werten erhält er einen stalagmometrischen Quotienten. Dieselbe Manipulation wiederholt er, nachdem er vorher den Harn durch Zusatz von Salzsäure auf einen bestimmten Aciditätsgrad unter Verwendung von Methylorange und Kongorot als Indicatoren gebracht hat. Der nunmehr zu berechnende Quotient ist der Säurequotient, der de norma unter 200 bleibt, während der erstgenannte Quotient normalerweise den Grenzwert von 100 nicht überschreitet.

Wir haben zunächst die Methode Schemenskys genau nachgeahmt und analoge Ergebnisse erhalten (siehe Tabelle I).

Erwähnt sei nur noch, daß wir ein Stalagmometer von der Tropfenzahl 59 für Wasser verwendeten.

Es mußte sich nun die Frage aufdrängen, aus welchem Grunde, in unserem Falle, der diabetische Harn sich ebenso stalagmonarm erwies, wie es auch Schemensky angegeben hatte, im Gegensatze zu der früher von uns festgestellten Tatsache, daß der Harn des Diabetikers oft sehr kolloidreich zu sein pflegt.

Die Antwort ergab sich unschwer.

Bedenkt man, daß der Diabetiker einen sehr reichlichen, also stark diluierten Harn ausscheidet, daß dessen Dichte durch den Zuckergehalt in die Höhe getrieben ist, so daß er, um auf die Dichte 1,010 gebracht zu werden, noch weiter verdünnt werden muß, so wird man einsehen, daß hierbei die Kolloide des Harnes in unvergleichlicher Weise mehr verdünnt werden, als es bei dem Harne eines normalen Menschen der Fall ist. Um den Krystalloidfehler zu vermeiden, verfällt man in den Fehler einer bedeutend mehr ins Gewicht fallenden Kolloidverdünnung. So brauchbar die Methode Schemenskys für Harne von normaler Tagesmenge ist, so muß sie bei Polyurie, besonders bei Diabetes mellitus unrichtige Werte ergeben. Es war somit die Methode zu modifizieren, um diese Fehlerquelle auszuschalten, und es

Tabelle I.*)

Nr.	Diagnose	Ursprüngliche Harndichte	Tropfenzahlen				Quotienten		Bemerkungen
			I	II	III	IV	Quotient	Säurequot.	
1	Gesunder	1025	64,6	60,1	—	—	74,8	—	—
2	Caries vertebrae	1018	62,68	59,25	68,5	59,1	58	160	—
3	Gesunder	1026	61,7	59,12	67,4	59,2	43	138	—
4	Caries vertebrae	1018	63	59,2	69,12	59,2	64	167	—
5	Carc. mamm. exulc.	1012	63,3	59,12	70,3	59,4	70	183	—
6	Carc. mamm. exulc.	1010	64,2	59,4	68,12	59,42	80	146	—
7	Tbc. pulm.	1018	70,2	59,8	72,24	60,12	174	201	Fieber. Eiweiß in Spuren.
8	Typh. abd. Gonorrh.	1008	68,42	60	76,2	60,64	140	257	Fieber. Eiweiß θ.
9	Tbc. pulm. Spontanpneumothorax	1015	66,6	59,42	70,8	60,2	120	176	Fieber. Eiweiß θ.
10	Cirrh. hep. Icterus.	1007	72,4	60,22	78,2	60,4	202	294	Fieber. Eiweiß +, Bilirubin +.
11	Intox. ac. hydrochlor.	1020	65,77	61,6	70,4	60,8	67	158	—
12	Tbc. Gravid.	1017	70,9	59,2	78,3	59,5	197	316	Fieber.
13	Alkaptonurie	1025	60	59,1	62,7	59	15	62	Eiweiß θ. Harn nach 24 Std. stehen, dunkel.
14	Dieselbe.	1024	62,42	59	65,6	59	58	112	Harn frisch, hell.
15	Ca. hepat. Ict. Cholämie.	1010	74,2	60,4	78,12	60	228	302	—
16	Diabetes mell	1028	59,4	—	—	—	—	—	—
17	Tabes dors.	1010	62,4	59,8	64,12	59,6	43,4	76	—
18	Derselbe	1023	62	59,22	66,2	59,8	47	107	Kurz nach intramusk. Inj. von 3 ccm Lactin.

*) Die Harne wurden nach Schemensky verarbeitet (auf die Dichte 1010 gebracht), stalagmometriert (I), mit Kohle geschüttelt (II), nach Säurezusatz stalagmometriert (III) sowie nach Kohleausschüttelung (IV). Die Quotienten sind ebenfalls nach den Angaben Schemenskys berechnet. Die Harne wurden, soweit es sich um weibliche Kranke handelt, mit Katheter entnommen und in der Regel sofort verarbeitet.

erschien dabei wünschenswert, statt Einzelportionen zu verwenden, Proben des 24stündigen Sammelharnes zu untersuchen, um so untereinander vergleichbare Werte für die Tagesausscheidung der Stalagmone zu gewinnen.

Es erschien hierzu nötig, folgende Fragen anzuschneiden:

1. Ist es nötig, ein so großes Gewicht auf den Gehalt des Harnes an Krystalloiden zu legen und kann nicht die Dichte vernachlässigt werden?

2. Ist es möglich, den Harn derart zu konservieren, ohne daß seine Oberflächenspannung verändert wird, daß mit dem 24stündigen Sammelharn gearbeitet werden kann?

3. Ist die Ausschüttelung mit Kohle nötig, welche eine Fehlerquelle in sich schließen kann, indem es fraglich erscheinen muß, ob stets die Adsorption des Kolloidgemenges beim Ausschütteln eine gleich vollkommene ist?

4. Ist die Indicatorenmethode hinreichend genau?

Aus diesem Grunde wurden Versuche angestellt, die in der Tabelle II zusammengestellt sind.

Tabelle II.

Nr.	Untersuchte Flüssigkeit	Dichte	Tropfenzahl	Quotient (berechnet auf die Wasserzahl)
1	Genuiner Harn (unverdünnt, frisch entleert)	—	75,6	281
2	Derselbe + Jodquecksilber	—	75,7	283
3	Ebenso wie Nr. 2. Nach 48 Stunden	—	75,2	274
4	Ebenso wie Nr. 2. Nach Säurezusatz	—	81,4	380
5	Ebenso wie Nr. 4. Nach 48 Stunden	—	80,12	357
6	Ebenso wie Nr. 2. Nach Kohleausschüttelung	—	60,02	17
7	Ebenso wie Nr. 2. Nach 48 Stunden mit Kohle ausgeschüttelt	—	60,12	19
8	H_2O 100 + NaCl 1,5 + $\overset{+}{U}$ 3,0 + $\overset{-}{U}$ 0,1	1017	59,5	8
9	Ebenso wie Nr. 8, + 10 g Traubenzucker	1054	61,4	40
10	Ebenso wie Nr. 9. Auf die Hälfte verdünnt	1031	60,4	23
11	H_2O 100 + 10 g Traubenzucker	—	61,3	39
12	Dasselbe wie Nr. 11, + 1 Tropfen Ammoniak	—	61,7	45
13	H_2O 100 + Gelatine 1,0	1005	68	152
14	Ebenso wie Nr. 13, + NaCl 1,5 + $\overset{+}{U}$ 3	1024	68,4	160
15	Ebenso wie Nr. 14, + 10 g Glucose	—	69,1	170
16	Ebenso wie Nr. 15, + Salzsäure	—	70,7	198
17	Ebenso wie Nr. 15, + 1 Tropfen Ammoniak	—	69,5	178

Aus diesen Versuchen ergibt sich folgendes:

1. Der Zusatz von Jodquecksilber, das in Wasser minimal löslich ist, ändert die Oberflächenspannung fast gar nicht.

2. Läßt man Harn nach Zusatz von Quecksilberjodid zwecks Konservierung 2 Tage lang im Laboratorium stehen, so bleibt seine Tropfenzahl fast unverändert.

3. Die Stalagmometrie des genuinen, des entkolloidierten und des angesäuerten Harnes ergibt bei Verwendung des Jodquecksilbers und bei längerem Stehen nur wenig differente Werte.

4. Ein künstlicher, aus den wichtigsten Krystalloiden des Urines zusammengesetzter Harn gibt einen den Wasserwert nur wenig überschreitenden Wert.

5. Bedeutender ist der Einfluß des Zusatzes von Zucker und besonders, was ja selbstverständlich ist, von Kolloiden und von Säure.

Diese Resultate haben uns dazu geführt, die ursprüngliche Methode zu verändern, derart, daß sie einerseits einfacher ist, andererseits durch Verwendung des Sammelharnes vergleichbare 24-Stundenwerte gibt. Die Methode, die wir nunmehr in 20 Fällen verwendet haben, über welche demnächst anderenorts berichtet werden soll, gestaltet sich nunmehr folgendermaßen.

Der 24stündige Harn wird unter Zusatz von einer Messerspitze Quecksilberjodid gesammelt und durch Verdünnen oder Einengen unter vermindertem Druck auf das Volumen von 2000 gebracht und nach Filtration verarbeitet.

Zuerst wird er stalagmometriert und die Tropfenzahl zur Wasserwert des Stalagmometers in ein Verhältnis gebracht. Dann wurde der Harn auf einen bestimmten Aciditätsgrad gebracht. Die Titration versuchten wir dadurch zu verschärfen, daß wir als Vergleichsflüssigkeit eine 7proz. Kaliumbichromatlösung verwendeten, die bei elektrischem Licht den gleichen Farbenton darbot wie der entsprechend angesäuerte und mit Methylorgane versetzte Harn. Es wurde auch darauf geachtet, stets dieselbe Indicatormenge zu verwenden, um dieselbe Farbe zu erzielen. Durch wiederholte Versuche haben wir uns von der Genauigkeit dieser Methode, die wir auch mit Gasketten zu kontrollieren begonnen haben, überzeugt. Der Säurequotient wurde ebenfalls durch Vergleich mit dem Wasserwert berechnet.

Tabelle III zeigt einige mit der geänderten Methodik erhaltene Ergebnisse, und zwar:

1. Der Quotient beträgt de norma weniger als 110, der Säurequotient weniger als 200.

2. Die Methode ist derart genau, daß sie auch bei den Harnen verschiedener Tage bei sonst gleichen Verhältnissen nahezu identische Werte ergibt.

3. Eine absichtliche Übertitrierung gibt einen beträchtlichen Ausschlag.

4. Die nunmehr verwendete Methode gestattet, an verschiedene neue Fragestellungen, denen eine gewisse Bedeutung für die Physiologie und Pathologie der Kolloidausscheidung zukommt, heranzutreten.

Dies zeigen 2 Fälle unserer Tabelle, deren Ergebnis freilich noch durch Wiederholung der Untersuchung auf ihre All-

Tabelle III.

Nr.	Diagnose	Genuiner Harn		Harn für die Bestimmung		Tropfenzahlen		Quotienten		Bemerkungen
		Menge	Dichte	Menge	Dichte	ursprünglich	angesäuert	Quotient	Säurequot.	
5	Epilepsie	1800	1017	2000	1015	62,1	65,5	52	110	—
6	"	—	—	—	—	—	67,4	—	142	Nach Übertitrieren mit 2 Tropfen Normalsalzsäure
2	Ischias	1800	1024	2000	1022	64,5	70,9	93	201	—
3	"	2275	1014	2000	—	64,4	70,02	91	187	—
12	Diabetes mell., Nephritis	3100	1030	2000	1040	70,5	78	195	322	—
16	Diabetes mell.	2030	1029	2000	—	67	72,8	135	234	Zucker 1,6‰, Aceton in Spuren, Acetessigsäure neg.
15	Arthritis	1200	1016	2000	1012	64,8	69,7	98	181	—
18	"	300	1023	1000	1008	61	67,3	34	140	Tagharn von 8h früh bis 8h abends
19	"	410	1018	1000	1009	61	67,4	34	142	Nachtharn von 8h abends bis 8h früh
29	Epilepsie (siehe Nr. 5)	2053	1013	2000	1012	62,3	65,25	56	106	—
30	"	2085	1014	2000	1015	62,7	67,2	63	139	Nach intramusk. Injektion von 3 ccm Lactin. Afebril.

gemeingültigkeit geprüft werden wird. Wir fanden im Gegensatz unserer Erwartung nach parenteraler Eiweißzufuhr (vielleicht war auch die Dosis zu gering) keine hochgradige Steigerung der Kolloidausscheidung und fanden zwischen Tag- und Nachtharn keine wesentliche Differenz. Wir behalten uns vor, weitere Untersuchungen in dieser Richtung anzustellen.

5. Bei Diabetes mellitus waren, wie wir erwartet hatten, im Gegensatze zu den Ergebnissen der Methode Schemenskys die Werte erhöht.

Literatur.

[1]) Pribram, Dtsch. Arch. f. klin. Med. **101**. 1911. — [2]) Pribram, Münch. med. Wochenschr. **53**. 1913. — [3]) Pribram und Löwy, Ebenda **52**. 1912. — [4]) Pribram und Löwy, Zentralbl. f. inn. Med. **33**. 1912. — [5]) Pribram und Löwy, Zeitschr. f. klin. Med. **77**. 1912. — [6]) Pribram und Herrnheiser, diese Zeitschr. **111**. 1920. — [7]) Schemensky, diese Zeitschr. **105**, 229. 1920. — [8]) Schemensky, Münch. med. Wochenschr. **67**, 773 u. 1407. 1920. — [9]) Bechhold und Reiner, diese Zeitschr. **108**, 98. 1920.

Der osmotische Druck in Blutkörperchen und Plasma.

Studien über das osmotische Verhältnis der Blutkörperchen. II.

Von

Rich. Ege.

(Aus dem Physiologischen Institut der Universität Kopenhagen.)

(Eingegangen am 12. Januar 1921.)

Sämtliche Lehr- und Handbücher der Physiologie und physiologischen Chemie geben an, daß der Blutkörpercheninhalt und das Plasma dieselbe osmotische Konzentration haben. Zieht man die Spezialliteratur zu Rate, wird es daher wundernehmen, daß man nirgends einen eigentlichen Beweis dieses fundamentalen Satzes findet[1]; man wird daher geneigt sein, zu behaupten, daß wir hier ein Axiom vor uns haben, einen Satz, der als gegeben betrachtet wird, weil man ihn als unmittelbar einleuchtend betrachtet.

Ist es aber so unmittelbar einleuchtend, daß die Blutkörperchen und das Plasma dieselbe osmotische Konzentration haben? Man stellt sich in der Regel das Blutkörperchen als eine Pfeffersche Zelle vor, indem das Blutkörperchenhäutchen semipermeabel sein sollte — ob es absolut semipermeabel oder nur den Salzen des Plasmas gegenüber semipermeabel ist, ist hier ohne Bedeutung. — Findet sich daher ein Unterschied zwischen der äußeren Flüssigkeit (dem Plasma) und der inneren Flüssigkeit (dem Blutkörpercheninhalt) betreffs der gesamten osmotischen Konzentration, so wird diese Differenz durch eine Diffusion von Wasser ausgeglichen, bis der osmotische Druck außen und innen identisch ist.

Bei diesem Schluß hat man jedoch ein wesentliches Moment übersehen, nämlich den Widerstand des Blutkörperchenhäutchens

[1]) Der z. B. von Höber (Physikalische Chemie der Zelle, 4. Aufl., S. 79) angegebene Beweis ist durchaus keiner.

gegen die Volumenveränderung. Es ist eigentlich recht sonderbar, wenn man daran denkt, daß die Lehre vom osmotischen Verhalten der Blutkörperchen teils auf Grund von Untersuchungen mit Pfeffers Osmometer, teils auf Grund des osmotischen Verhaltens der Pflanzenzellen aufgebaut worden ist, und hier ist man genötigt, in ganz anderer Weise Folgerungen zu ziehen.

Wird eine Pfeffersche Zelle — mit einer Steigröhre montiert die eine Rohrzuckerlösung von bestimmter Konzentration enthält — in einem Gefäß mit H_2O angebracht, wird das Wasser in das Osmometer eindringen — nicht bis die osmotische Konzentration außen und innen gleich groß ist, denn dies wird erst bei der unendlichen Verdünnung erreicht, sondern bis der hydrostatische Druck, der im Osmometer entsteht, eine Ausdiffusion von Wasser hervorrufen wird, die ebenso groß ist wie die Eindiffusion, die die Differenz des osmotischen Druckes verursacht.

Nichts hindert daher, daß der osmotische Druck in einer Zelle von dem Druck der umgebenden Flüssigkeit weit verschieden sein kann, sogar wenn sie von einer für Wasser permeablen Membran umgeben ist. Entscheidend für die Frage ist, ob die Membran gegen die durch die Wasserverschiebung hervorgerufene Volumenveränderung Widerstand leistet oder nicht. Im allgemeinen läßt sich nur sagen, daß der osmotische Druck abzüglich des hydrostatischen Drucks in der Zelle dem osmotischen Druck gleich sein muß, der außerhalb der Zelle herrscht.

Von der Pflanzenphysiologie her ist man gewohnt, dieses Verhältnis zu berücksichtigen; hier sind die Zellenwände so steif, daß ersichtlicherweise der osmotische Druck in der Zelle und in dem sie umgebenden Medium gar nicht identisch zu sein braucht. Soviel man weiß, handelt es sich gar nicht um geringe Größen; der hydrostatische Überdruck in den Pflanzenzellen kann sicherlich recht bedeutend, bis mehrere Atmosphären groß sein.

Man fragt sich deshalb unwillkürlich: weshalb sollte dasselbe nicht auch mit den tierischen Zellen — speziell den Blutkörperchen — der Fall sein können? Leistet das Blutkörperchenhäutchen einen Widerstand gegen das Schwellen, so muß der sich ergebende osmotische Druck des Blutkörpercheninhalts größer sein als der osmotische Druck der hypotonischen Lösung, in welche die Blutkörperchen suspendiert sind; die Größe der Differenz hängt von dem Widerstand des Blutkörperchenhäutchens gegen die

Dehnung ab. Leisten die Blutkörperchen gleichfalls Widerstand gegen ein Schrumpfen, so muß der osmotische Druck im Blutkörperchen kleiner sein als in der hypertonischen Lösung, in der es suspendiert ist.

Auch wenn die Blutkörperchen sich im Plasma befinden, ist es nicht gegeben, daß Blutkörperchen und Plasma dieselbe osmotische Konzentration haben. Hat das Blutkörperchen eine elastische Eigenform (z. B. bikonvex), könnte die bikonkave Form darauf beruhen, daß die osmotische Konzentration des Plasmas größer ist als die des Blutkörpercheninhalts. Das Wasser wird daher aus dem Blutkörperchen hinausdiffundieren, so daß das Volumen kleiner wird. Leistet das Blutkörperchen keinen Widerstand gegen diese Form- und Volumenveränderung, wird das Wasser aus dem Blutkörperchen fortgesetzt hinausdiffundieren, bis der osmotische Druck außen und innen identisch ist; leistet das Blutkörperchen aber Widerstand gegen das die bikonkave Form bewirkende Schrumpfen, so muß der osmotische Druck im Blutkörperchen unter normalen Verhältnissen geringer sein als im Plasma. Wenn wir aber auch vorläufig von diesem Verhältnis absehen, ist es keineswegs ausgemacht, daß das osmotische Gleichgewichtsverhältnis, das sich zwischen Blutkörpercheninhalt und dem umgebenden Medium einstellen wird, notwendigerweise eine identische osmotische Konzentration bewirkt. Es unterliegt kaum einem Zweifel, daß die Oberflächenspannung des Häutchens für den Gleichgewichtszustand von Bedeutung sein kann[1]).

Am natürlichsten wäre es vielleicht nach der Form des Blutkörperchens, anzunehmen, daß die osmotische Konzentration unter normalen Verhältnissen geringer wäre als die des Plasmas. Das Wasser würde somit die Neigung besitzen, aus dem Blutkörperchen hinauszudiffundieren, und dieses Bestreben würde sich auch verwirklichen lassen, bis die Spannung, welche das Blutkörperchenhäutchen gegen ein weiteres Hineinsaugen leistete, einer fortgesetzten Hinausdiffusion von Wasser entgegenwirkte. In hypertonischen Flüssigkeiten müßte man dann einer entsprechenden, nur ausgesprocheneren Differenz gewärtig sein, wogegen man zu erwarten hätte, daß die osmotischen Konzentrationen des Blutkörpercheninhalts größer sein müßten als der osmotische Druck in der hypotonischen Lösung, in welche man

[1]) Kaufler, Zeitschr f. physikal. Chemie **43**, 686. 1903.

die Blutkörperchen suspendiert hat, indem die Elastizität des Blutkörperchenhäutchens das Eindringen von Wasser aus der hypotonischen Lösung in das Blutkörperchen verhindern würde.

Die Größenordnung der etwaigen Differenz ist wie erwähnt durch den Widerstand bedingt, den das Blutkörperchenhäutchen gegen Schwellen und Schrumpfen zu leisten vermag. Wie groß sie ist, läßt sich schwierig sagen; aller Wahrscheinlichkeit nach ist sie nicht groß, aber bis zur völligen Nichtanerkennung ihrer Bedeutung ist noch ein weiter Schritt; denn wie z. B. Pfeffer (Pflanzenphysiologie I, S. 122) hervorhebt, ist sicherlich die Größe des Krümmungsradius von größerer Bedeutung als die Dicke der Wand, indem die Widerstandskraft dem Krümmungsradius umgekehrt proportional ist.

In diesem Zusammenhange soll daran erinnert werden, daß der Überdruck, den die elastischen Pflanzenwände aushalten müssen, sehr oft 5—6 Atm. — nach Höber sogar bis 60 Atm. — beträgt, so daß es von einem Vergleich mit den Pflanzenzellen aus nicht als ausgeschlossen betrachtet werden sollte, daß die osmotische Konzentration des Blutkörpercheninhalts von der des Plasmas verschieden — größer oder kleiner — sein könnte.

Inwiefern im Plasma und in dem Innern der Blutkörperchen derselbe oder ein verschiedener osmotischer Druck herrscht, haben die Verfasser, die sich mit dieser Frage beschäftigt haben, durch eine Bestimmung der Gefrierpunktsdepression in den beiden Phasen zu beantworten gesucht; die Schwierigkeit liegt darin, die Blutkörperchenphase einer Bestimmung der Gefrierpunktsdepression zugänglich zu machen, eine Schwierigkeit, die meistens übersehen ist.

Die älteren Untersuchungen wollen wir hier nicht besprechen, da sie in Hamburgers „Osmotischer Druck und Ionenlehre“ ausführlich referiert sind.

Später hat Hamburger[1]) die Behandlung der Frage wieder in Angriff genommen; den Blutkörperchensaft gewinnt er, indem er die Blutkörperchen mit Sand reibt und sie mit Kieselgur in einer Buchnerschen Presse ausdrückt.

In diesen Versuchen findet Hamburger fast immer eine geringere Gefrierpunktserniedrigung im Blutkörperchensaft als im Plasma oder Serum, der Unterschied kann aber weniger als $^1/_{100}{}^\circ$ betragen, in anderen Versuchen ist der Unterschied jedoch bedeutend größer (hämolysiertes

---

[1]) Arch. néerlandaises 1918.

Blut 0,560, entsprechendes Serum 0,625). Hamburger folgert aber, wie man erwarten sollte, daraus nicht, daß die Blutkörperchen eine geringere osmotische Konzentration besitzen als das Plasma; er hat sich durch Gryns Behauptung überzeugen lassen, daß eine osmotische Differenz zwischen Blutkörperchen und Plasma eine Unmöglichkeit sei, da die Membran für Wasser permeabel ist, und behauptet daher, daß das Protoplasmanetz der Blutkörperchen sich nach dem Gefrieren nicht indifferent gegenüber Salzen und Wasser verhält.

Im Gegensatz hierzu sollen Krönig und v. Fürth[1]) gefunden haben, daß die Gefrierpunktsdepression in Plasma und Blutkörperchensaft identisch sei[2]).

Das Verhältnis zwischen dem osmotischen Druck und der Gefrierpunktserniedrigung in Blutkörperchen und Plasma ist am ausführlichsten von Moore und Roaf behandelt worden: On the equilibrium between the cell and its environment in regard to soluble constituents etc.[3]), in einer Abhandlung, die zahlreiche fundamentale Fehlschlüsse enthält.

Durch eine Reihe von theoretischen Betrachtungen, die oft recht bestechend sein können, wird geltend gemacht, daß die allgemeine Theorie vom Blutkörperchen als einer Pfefferschen Zelle eine Absurdität ist. Im experimentellen Teil der Abhandlung, der freilich ganz außerordentlich schwach ist, suchen die Verfasser zu zeigen, daß die osmotische Konzentration in Blutkörperchen und Plasma nicht identisch sei. Sie machen zuerst darauf aufmerksam, daß es tierische Zellen gibt, die unmöglich mit den umgebenden Flüssigkeiten in osmotischem Gleichgewicht sein können, indem diese auf den verschiedenen Seiten verschieden sind: Die Speicheldrüsen mit der Lymphe einerseits, der sezernierte Speichel mit weit geringerer osmotischer Konzentration andererseits; die Zellen der Tubuli contorti mit Lymphe einerseits, der Harn andererseits. Indem Moore und Roaf nun zu der Frage übergehen, ob das gleiche mit den Blutkörperchen und der sie umgebenden Flüssigkeit — Plasma und Salzlösung — der Fall sei, begehen sie einen verhängnisvollen Fehler. Blutkörperchen und Plasma werden durch das Zentrifugieren getrennt, und der Gefrierpunkt wird im Serum und in der Blutkörperchenaufschwemmung bestimmt, ohne daß diese irgendwelche Veränderung (Hämolysierung) durchgemacht hat. Daraus folgt aber, daß beide Bestimmungen in der Tat an Serum ausgeführt worden sind; denn wie bereits Hamburger und Hedin behaupteten, ist eine Bestimmung des Gefrierpunkts des Plasmas und des Blutes in beiden Fällen nur eine Bestimmung des Gefrierpunkts des Plasmas, und dies muß natürlicherweise gelten, es sei, daß man

---

[1]) Monatsschr. f. Geburtshilfe u. Gynäkologie 1901.

[2]) Very carefull measurements by K. & v. F. have shown, that the freezing-point of the bloodplasma, or of the bloodserum and blood-corpuscle is the same; and the same osmotic equilibrium has been shown to exist between the various body fluids with exception of the urine. (Zit. nach Mc Cay, Biochemical Journ. 3. 1908.)

[3]) Biochemical. Journ. 3. 1908.

mit einer recht spärlichen Blutkörperchensuspension, wie natürliches Blut, oder mit einer konzentrierten, wie dicht abzentrifugierte Blutkörperchenmasse, arbeitet.

In praxi kann man natürlicherweise nicht erwarten, absolut denselben Wert zu finden; während der Bestimmung werden wegen des Gefrierens einzelne Blutkörperchen hämolysieren, aber daß im großen ganzen doch die Gefrierpunktserniedrigung des Serums und nicht die des Blutkörpercheninhalts bestimmt wird, davon kann man nicht abkommen. Weshalb Moore und Roaf dennoch eine geringere Δ für die Blutkörperchenaufschwemmung finden als für das Serum, soll hier nicht näher erörtert werden.

In derselben Weise werden Bestimmungen ausgeführt, wo das Plasma durch hypertonische, isotonische und hypotonische Salzlösungen ersetzt wird; in allen Fällen hat die Blutkörperchenlösung eine bedeutend von der der äußeren Flüssigkeit abweichende Δ; bei einem Versuch, wo die äußere Flüssigkeit hypotonisch ist, ist die Δ der Blutkörperchenlösung 0,117° höher als die der äußeren Flüssigkeit: in dem Falle sollte das Blutkörperchenhäutchen also einen hydrostatischen Druck (x) von

$$\frac{0{,}117}{1{,}85} = \frac{x}{22{,}4}$$

also von 1,35 Atm. aushalten können; ein Versuch mit hypertonischer äußerer Flüssigkeit ergab für die Blutkörperchenlösung eine Δ, die 0,08° niedriger war als die der äußeren Flüssigkeit; daraus sollte man also schließen können, daß das Blutkörperchenhäutchen auch gegen Schrumpfung Widerstand leistete, indem wir hier einem hydrostatischen Unterdruck von etwa 1 Atm. gegenüberstehen.

Es lohnt sich aber wohl kaum, auf diese Versuche näher einzugehen, da, wie erwähnt, gar nicht die Δ des Blutkörpercheninhaltes bestimmt wird.

Noch schlechtere Beweise für die verschiedene osmotische Spannung in den Blutkörperchen und in dem Plasma (Serum) liefern einige Versuche, in denen Blutkörperchen und Plasma gleich lange Zeit und unter denselben Verhältnissen gegen Wasser dialysiert werden; nach dem Dialysieren wird das Volumen der äußeren Flüssigkeit bis auf das ursprüngliche Volumen der Blutkörperchen und des Plasmas konzentriert, wonach der Gefrierpunkt bestimmt wird.

Dialysat von Serum $\Delta = 0{,}519$; Dialysat von Blutkörperchen $\Delta = 0{,}269$.

Dieser Versuch beweist ebensowenig wie der folgende, in dem Serum und Blutkörperchen eingeäschert und die Asche bis zu dem ursprünglichen Volumen in H_2O gelöst wurde, daß die Blutkörperchen eine geringere osmotische Konzentration haben als das Plasma, oder daß „zwischen den organischen Stoffen des Blutkörperchens und seinen Elektrolyten eine Adsorption stattfindet" als in betreff des Plasmas.

Die Einäscherungsmethode ergibt für Serum $\Delta = 0{,}450$; für Blutkörperchen $\Delta = 0{,}357$.

In dem letztangeführten Versuch liegt die wesentliche Ursache des großen Unterschieds einfach darin, daß die Elektrolyte der Blutkörperchen nur in etwa 60 Teilen Wasser, die des Serums dagegen in etwa 90 Teilen

gelöst werden sollen; die disperse Phase in den Blutkörperchen ist so groß, daß es zu wesentlichen Fehlschlüssen führt, wenn darauf keine Rücksicht genommen wird. Dieselbe Erklärung muß sich natürlicherweise auch beim Dialyseversuch geltend machen, aber dazu kommt noch, daß die Elektrolyte der Blutkörperchen nicht so schnell wie die des Serums in das Dialysat hinauszudiffundieren vermögen.

Eine Durchsicht der Literatur führt meiner Meinung nach zu der Anschauung, daß es schwer ist, von dem osmotischen Druck der Blutkörperchen im Verhältnis zu dem des Plasmas etwas Bestimmtes zu sagen; die vorliegenden Versuche scheinen jedoch zunächst dafür zu sprechen, daß ein geringer Unterschied des osmotischen Druckes vorliegt, so daß dieser in den Blutkörperchen am geringsten ist (eine Annahme, die bei der Form des Blutkörperchens anmutet), daß aber die Methoden und die Messungen so unsicher sind, daß es als notwendig betrachtet werden muß, neue Versuche anzustellen.

Es kam zuvörderst darauf an, die beiden Phasen zu trennen; hier stoßen wir auf die erste Schwierigkeit. Plasma oder Serum kann man ja mit Leichtigkeit gewinnen, dagegen ist es sehr schwer, eine absolut plasmafreie Blutkörperchenmasse zu erhalten, sobald es sich um größere Mengen handelt. Die Blutkörperchenmasse, mit der ich in diesen Versuchen arbeitete, enthielt etwa 10—20% Plasma; sodann muß man in irgendeiner Weise die Blutkörperchen total hämolysieren (fand sich zwischen den Blutkörperchen kein Plasma, war letzteres nicht notwendig); dies läßt sich u. a. erzielen

1. durch Gefrieren und Auftauen (oft muß man die Behandlung mehrmals wiederholen, ohne daß es gelingt, alle Blutkörperchen zu hämolysieren),
2. durch Pressen in Buchners Presse[1]),
3. durch Zusatz von Saponin.

Von diesen Methoden benutzte ich vorzugsweise die beiden ersteren, namentlich die Pressung.

Eine Reihe von Bestimmungen ergaben alle dasselbe Resultat: die Gefrierpunktserniedrigung war immer niedriger im Blutkörperchensaft als in dem entsprechenden Plasma oder Serum.

---

[1]) Das benutzte Kieselgur und der Sand wurden geglüht, mit Salzsäure behandelt und sodann ganz außerordentlich sorgfältig mit H_2O gewaschen.

Hamburger findet (1918) dasselbe, erklärt es aber durch die Annahme, daß Elektrolyte vom Stroma adsorbiert werden. Die Erklärung ist — jedenfalls zum großen Teil — anderswo zu suchen, indem die Adsorption einfach an dem benutzten Kieselgur stattfindet[1]), was aus dem folgenden Versuch hervorgeht.

Rinderblut mit Zusatz von 0,2% Natriumfluorid; Blutkörperchen und Plasma durch Zentrifugieren voneinander geschieden. Die Blutkörperchen werden mit Sand gerieben und in 3 Portionen mit Kieselgur gepreßt, so daß die Kieselgur, die zur ersten Portion Blutkörperchen benutzt worden ist, wiederum zur zweiten und dritten Portion benutzt wird. Findet zwischen der Kieselgur und den Elektrolyten des Blutkörpercheninhalts eine Adsorption statt, so muß die 1. Probe die niedrigste Δ ergeben, indem die Kieselgur vermutlich immer mehr gesättigt wird.

1. Portion Blutkörperchensaft	Δ = 0,705
2. „ „	„ = 0,727
3. „ „	„ = 7,740
Blutkörperchensaft (durch Gefrieren gewonnen)	„ = 0,776
Plasma (Fluornatrium)	„ = 0,850

Man muß daher annehmen, daß eine solche Adsorption in der Tat stattfindet, und daß Gefrierpunktsbestimmungen an in dieser Weise gewonnenem Blutkörperchensaft keine zuverlässige Vorstellung von der osmotischen Konzentration des Blutkörpercheninhalts geben können, was weiter noch bestätigt wird durch den folgenden Versuch, bei dem ich, um die Adsorption zu vermeiden, beim Pressen ausschließlich Sand verwendete.

Blutkörperchen mit Sand gepreßt	Δ = 0,600
„ „ Kieselgur gepreßt	„ = 0,549
Entsprechendes Plasma	„ = 0,594

Während der durch Pressen mit Kieselgur gewonnene Blutkörperchensaft eine deutlich niedrigere Gefrierpunktsdepression ergab als das Plasma, wahrscheinlich wegen der Adsorption, war die Gefrierpunktsdepression praktisch gesprochen dieselbe für Plasma und den durch Pressen mit Sand gewonnenen Blutkörperchensaft.

[1]) Hamburger erörtert dieselbe Möglichkeit, lehnt sie aber ab, indem er auf Offringa verweist; dieser Forscher findet, daß die Gefrierpunktserniedrigung des Serums bei Behandlung mit Kieselgur nicht geändert wird. Diese Zeitschr. 28. 1910.

Dies Resultat ist jedoch eine Ausnahme und nicht die Regel, indem man gewöhnlich, außer wenn man die Blutkörperchen mit Sand preßt oder sie durch wiederholtes Gefrieren und Auftauen hämolysiert, bis die Menge der Blutkörperchen ganz gering ist, eine Gefrierpunktserniedrigung finden wird, die für den Blutkörperchensaft geringer (0,02—0,07°) ist als für das Plasma.

Wenn der Unterschied zwischen der Gefrierpunktserniedrigung des Blutkörpercheninhalts und der äußeren Flüssigkeit wirklich vorhanden ist und von dem Widerstand des Häutchens gegen das Schwellen und das Schrumpfen herrührt, muß die Gefrierpunktserniedrigung geringer sein als die der äußeren Flüssigkeit, wenn letztere hypertonisch ist, und größer, wenn sie hypotonisch ist.

Für dieses Verhalten spricht der folgende Versuch, wenn er auch nicht durchaus überzeugend ist.

Rinderblut 0,2%. Fluornatrium. Blutkörperchen abzentrifugiert und in 3 Portionen geteilt. Die eine wurde mit dem gleichen Volumen 0,8 proz. NaCl[1]), die zweite mit 0,6 proz. gemischt; die dritte Portion wurde sofort durch Gefrieren hämolysiert, die beiden anderen erst, nachdem sie durch Zentrifugieren von der äußeren Flüssigkeit geschieden worden waren. Beim Gefrieren war es am leichtesten, die Blutkörperchen der hypotonischen Flüssigkeit zu hämolysieren.

Das Gefrieren und Auftauen wurde in allen Fällen fortgesetzt, bis die Menge von ganzen Blutkörperchen bis unter 10% von der ursprünglichen Anzahl gesunken war.

Ursprünglich 0,2% Fluornatrium-Plasma	= 0,823
entsprechender Blutkörperchensaft	= 0,740
Diff. (Plasma-Blutkörp.)	= 0,083°
0,8% NaCl-Plasma	= 0,619
entsprechender Blutkörperchensaft	= 0,591
Diff.	= 0,028°
0,6% NaCl-Plasma	= 0,538
entsprechender Blutkörperchensaft	= 0,544
Diff.	= ÷ 0,006°

Das Resultat dieser Versuche ist, daß tatsächlich ein Unterschied besteht zwischen der Gefrierpunktserniedrigung im Plasma

[1]) Es wurde 0,8 proz. NaCl benutzt statt 0,9 proz., da die osmotische Konzentration der Blutkörperchenmasse größer ist als die des normalen Plasmas; diese Probe sollte bei Mischung mit 0,8 proz. NaCl dem natürlichen Blut annäherungsweise isosmotisch werden.

oder der äußeren Flüssigkeit und in dem gewonnenen Blutkörperchensaft. In hypertonischen oder isotonischen Lösungen aufgeschwemmt, hat die äußere Flüssigkeit die größte Erniedrigung, und der Unterschied ist namentlich ausgeprägt in Fällen von Hypertonie; in isotonischen Flüssigkeiten kann die Δ identisch und in hypotonischen (nur ein Versuch) identisch oder niedriger sein.

Es fragt sich nur, ob man aus diesen Bestimmungen einen sicheren Schluß betreffs des osmotischen Druckes im Plasma und in dem Blutkörpercheninhalt unter natürlichen Verhältnissen ziehen kann; denn in dem Falle muß es — oder vielmehr kann es, da wohl auch andere Erklärungsmöglichkeiten vorliegen — bedeuten, daß das Blutkörperchenhäutchen gegen das Schrumpfen Widerstand, aber gegen das Schwellen keinen nennenswerten Widerstand leistet, so daß die normale Form der Blutkörperchen im Plasma als eine Schrumpfform aufgefaßt werden könnte. Man darf aber nicht vergessen, daß sich gegen die Methode verschiedene Einwände erheben lassen.

1. Die Gefrierpunktsbestimmungen ergeben nur eine Bestimmung der osmotischen Konzentration bei der Gefrierpunktstemperatur; hat man mit Lösungen von undissoziabeln Verbindungen zu tun, deren Δ identisch ist, muß die osmotische Konzentration dieser Lösungen auch bei allen Temperaturen identisch sein; dasselbe ist aber nicht der Fall mit dissoziabeln Verbindungen, da wir nicht wissen, ob die Dissoziation der beiden Lösungen bei zunehmender Temperatur in demselben Maße gesteigert werden wird.

Ein Unterschied der Δ zwischen Blutkörperchensaft und Plasma braucht daher nicht zu bedeuten, daß bei 37° oder vielmehr bei der Temperatur, bei der die Trennung stattgefunden hat, ein Unterschied zwischen den osmotischen Konzentrationen der beiden Phasen vorliegt.

2. Die Gefrierpunktserniedrigung ist nur maßgebend für die osmotische Konzentration der Lösung, wenn reines H_2O bei der Abkühlung ausfriert. Wir kennen Fälle, in denen das Wasser und der gelöste Stoff zusammen ausfrieren; in solchen Fällen wird die Gefrierpunktserniedrigung geringer sein als sie sein sollte; frieren Wasser und gelöster Stoff in demselben Verhältnis aus, in dem sie in der Lösung vorhanden sind, ist die Gefrierpunkts-

erniedrigung 0, da ja nichts hindert, daß die Kristallphase konzentrierter ist als die flüssige Phase. In diesem Falle erhält man keine Gefrierpunktserniedrigung, sondern eine Gefrierpunktserhöhung.

Wenn etwas Ähnliches in betreff des Blutkörperchenpreßsaftes denkbar ist, so ist die Gefrierpunktsdepression ein falsches Maß für die osmotische Konzentration. Nun gewinnt man ja oft Hämoglobinkristalle bei Abkühlung des Blutkörperchenpreßsaftes; denkt man sich, daß sowohl das Hämoglobin als das Wasser auskristallisiert, so wird die aus der Gefrierpunktsbestimmung berechnete osmotische Konzentration um so viel niedriger sein als die tatsächliche, wie die osmotische Konzentration des gelösten Hämoglobins, d. h. um $^1/_2$ Atm. (etwa 0,04° entsprechend). Dieser Einwand ist indessen durch besondere Versuche aufgehoben worden, indem eine Untersuchung der gebildeten Kristalle zu zeigen schien, daß diese ausschließlich aus reinem H_2O bestanden.

Hamburger hat eine Reihe von Untersuchungen angestellt, die, falls sie richtig sind, zeigen, daß es tatsächlich unmöglich ist, aus Gefrierpunktsdepressionsbestimmungen an Plasma und Blutkörpercheninhalt über die ursprünglichen osmotischen Konzentrationen in Blutkörperchen und Plasma Schlüsse zu ziehen. In einer Reihe von Versuchen fand er, daß lackfarbiges Blut immer eine niedrigere Δ hatte, als das entsprechende Serum. Die Hämolyse war durch wiederholtes Gefrieren und Auftauen hervorgerufen. Natürlicherweise möchte man versucht sein, daraufhin anzunehmen, daß die Δ des Blutkörpercheninhalts tatsächlich niedriger war als die des Plasmas; doch scheint dieser Gedanke Hamburger fernzuliegen. Er wählt die Erklärung, daß das Stroma Elektrolyte bindet, und zeigt durch besondere Versuche, daß diese Annahme richtig ist; setzt man nämlich eine bekannte Menge NaCl zu einer gegebenen Menge von lackfarbigem Blut, so sollte man einigermaßen berechnen können, um wieviel die Gefrierpunktsdepression zunehmen muß; in einem einzelnen Versuch findet er einen Abfall, in dem anderen eine bedeutend geringere Steigerung als berechnet, also bindet das Stroma Elektrolyte, und daher hat man a priori eine Herabsetzung der Depression des Gesamtblutes zu erwarten, wenn die Blutkörperchen durch Gefrieren gesprengt werden und das Stroma frei wird.

Die Schwäche von Hamburgers Erklärung liegt darin: Weshalb bindet das Stroma keine Elektrolyte, wenn es mit den Blutkörperchen zusammen auftritt, sondern erst wenn es frei ist, oder vielmehr, weshalb wird die elektrolytenbindende Fähigkeit des Stromas durch Gefrieren vermehrt?

Hamburgers Beobachtung mag wohl richtig sein, die Erklärung läßt sich aber vielleicht in einer etwas rationelleren Weise ausdrücken. Wir setzen voraus, daß wir 2 Phasen — dem Plasma und dem Blutkörpercheninhalt — gegenüberstehen, die durch eine semipermeable Wand getrennt sind und die dieselbe osmotische Konzentration haben. Wie wird es dann mit der osmotischen Konzentration sich verhalten, wenn die Wand zerstört wird und die beiden Phasen sich frei miteinander vermischen? Es läßt sich schwer a priori etwas darüber sagen; soviel darf man aber behaupten, daß es möglich ist, daß die osmotische Konzentration nicht unverändert bleiben wird.

Es ließe sich auch denken, daß sich in den beiden Phasen Stoffe fänden, welche die Dissoziation der in der anderen Phase vorhandenen Stoffe zurückdrängen könnten, so daß die osmotische Konzentration nach der Mischung kleiner würde; oder auch, daß sich in den beiden Phasen Stoffe fänden, die den in der anderen Phase vorhandenen Stoffen gegenüber ein spezifisches Adsorptionsvermögen besäßen[1]).

Es ist daher nicht möglich, mit Sicherheit zu entscheiden, inwiefern eine Gefrierpunktsbestimmung für das osmotische Gleichgewichtsverhältnis zwischen Blutkörperchen und Plasma absolut maßgebend sein kann, da man nicht mit durchaus plasmafreien Blutkörperchen arbeiten kann, was sehr schwer ist, sobald es sich um große Mengen von Blutkörperchen handelt; wenn man auch letztere Schwierigkeit überwinden könnte, indem man mit Blutkörperchen arbeitete, die absolut frei von Plasma sind, so würde man doch noch auf eine Schwierigkeit stoßen. Wie ich in einer späteren Abhandlung dartun werde, wird eine Änderung der Wasserstoffionenkonzentration eine recht bedeutende Veränderung der osmotischen Konzentration des Blutkörpercheninhalts bewirken; wenn nach der Trennung eine Änderung der Reaktion der beiden Systeme stattfindet, können die beiden

[1]) Es ist tatsächlich diese Möglichkeit, auf die Hamburger hinweist und die er experimentell bewiesen zu haben meint.

Systeme somit eine verschiedene osmotische Konzentration erhalten, auch falls die osmotischen Konzentrationen ursprünglich identisch waren.

Zusammenfassung.

I. Der osmotische Gleichgewichtszustand zwischen Plasma und Blutkörperchen braucht nicht identisch zu sein.

II. Es ist möglich, daß das Blutkörperchenhäutchen gegen Schrumpfung und Schwellen Widerstand zu leisten vermag; in diesem Falle kann zwischen der osmotischen Konzentration des Blutkörpercheninhalts und der äußeren Flüssigkeit ein Unterschied bestehen.

III. Infolge einer Reihe von theoretischen sowie praktischen Schwierigkeiten sind die Gefrierpunktsdepressionen nicht absolut maßgebend für die Frage nach der osmotischen Konzentration der Blutkörperchen und des Plasmas.

Die akzessorischen Nährstoff-Faktoren. I.

Zum Sondernährwert verschiedener Nahrungsfette.

Von

Hans Aron und **Richard Gralka.**

(Aus der Universitäts-Kinderklinik Breslau.)

(Eingegangen am 14. Januar 1921.)

Mit 6 Abbildungen im Text.

Unsere Anschauungen über die Ernährung stützten sich bisher im wesentlichen auf die Ergebnisse der Stoffwechselforschung. Es gibt aber eine Reihe von praktisch ungemein wichtigen Problemen, welche sich mit Hilfe von Stoffwechseluntersuchungen überhaupt nicht oder nur ganz unvollkommen entscheiden lassen. Der Stoffwechselversuch kann sich stets nur auf eine beschränkte Zahl von Tagen erstrecken, und sobald daher an uns die Aufgabe herantritt, die Wirkung einer langdauernden Ernährung mit bestimmten Kostformen festzustellen, wird die Bestimmung des Stoffumsatzes praktisch undurchführbar. Tatsächlich hat sich auch gezeigt, daß sich gerade die grundlegenden Fragen über die Wirkungen bestimmter Ernährungsformen, über die Bedeutung der einzelnen Nahrungsbestandteile und Nährstoff-Faktoren, besser durch systematische Ernährungsversuche als durch kurzdauernde Stoffwechseluntersuchungen entscheiden lassen. Durch den systematischen Fütterungsversuch hat man erkannt, daß Schlüsse und Beobachtungen aus kurzen Stoffwechseluntersuchungen nicht ohne weiteres auf längere Zeiträume übertragen werden dürfen. Wie der Mensch die Stunden zwischen den Mahlzeiten oder die ganze Nacht selbstverständlich jede Nahrungsaufnahme entbehren kann, wie er eventuell einige Tage eine völlig eiweißfreie Kost ohne jeden Schaden verträgt, so braucht sich wochen-, ja monatelanges Fehlen anderer Nahrungsbestandteile in der Kost nicht bemerkbar zu machen, und doch wäre es irrig, daraus

den Schluß zu ziehen, daß diese Nahrungsbestandteile nun dauernd völlig entbehrlich seien.

Es gibt eben Nahrungsbestandteile, deren Fehlen in der Kost sich nicht sofort im Ernährungserfolg oder Stoffumsatz bemerkbar macht, auf die Dauer aber doch schwere Störungen im Ablauf der Ernährungsvorgänge zur Folge hat. Das ist es ja, was die Forschungen über die akzessorischen Nährstoff-Faktoren und über ihre Bedeutung für die Ernährung so ungemein schwierig macht, und hieran liegt es auch, daß man sogar heute noch nicht über die scheinbar fundamentalsten Fragen des Wertes und der Entbehrlichkeit der einzelnen Nahrungsbestandteile völlige Klarheit gewonnen hat.

Ein Problem von allgemeinster Bedeutung für die Ernährungslehre stellt die Fettfrage dar, deren Diskussion gerade durch die Schwierigkeiten der Kriegsernährung wieder in den Vordergrund gerückt worden ist. Langdauernde Fütterungsversuche hatten schon früher zu dem Ergebnis geführt, daß die bis dahin allgemein vertretene Anschauung von der Ersetzbarkeit der Nahrungsfette durch Kohlenhydrate nicht bedingungslos aufrechterhalten werden kann[1]). Im Gegenteil wiesen diese Versuche ebenso wie klinische Beobachtungen darauf hin, daß den Nahrungsfetten als solchen oder bestimmten Bestandteilen dieser Nahrungsfette gewisse Funktionen zukommen müssen, die es unmöglich machen, die Nahrungsfette auf die Dauer restlos durch andere Nährstoffe zu ersetzen. Über jeden Zweifel erhaben zeigten Tierexperiment und Klinik die Überlegenheit bestimmter fetthaltiger Kostformen gegenüber fettarmen Nahrungsgemischen. Auf diese Erfahrungen gestützt, war die Lehre vom Sondernährwert der Nahrungsfette[2]) aufgestellt worden.

Es handelte sich für uns niemals um das rein theoretische Problem, ob eine künstlich von allen Resten fetthaltiger Bestandteile befreite Nahrung für die Ernährung unzureichend sei, sondern nur um die in ihrer Nutzanwendung praktisch hochbedeutungsvolle Frage, ob eine aus natürlich vorkommenden fettarmen Nahrungsmitteln ohne besondere Fettzulage zusammengesetzte Nahrung Leben und Gesundheit in derselben Weise aufrecht-

[1]) H. Aron, Berl. klin. Wochenschr. 1914, Nr. 21.
[2]) H. Aron, diese Zeitschr. 92, 211. 1918.

zuerhalten vermag, wie eine entsprechende Kost mit bestimmten Fettzulagen. Zu gleicher Zeit erhob sich die Frage, wieweit die auf Grund der Arbeiten amerikanischer Forscher sowie eigener Untersuchungen vertretene Anschauung von der verschiedenen biologischen Wertigkeit der einzelnen Nahrungsfette hierbei eine Rolle spielt.

Von vornherein war klar, daß man zuerst den ganzen Komplex der Nahrungsfette ins Auge fassen mußte, also jenes Gemisch, das zwar zum größten Teil aus Glycerinestern verschiedener Fettsäuren, den Fetten im streng chemischen Sinne, besteht, daneben aber eine Reihe von Begleitstoffen enthält: einen unverseifbaren Rest, Phosphatide, Lipoide. Wir wissen ferner, daß gewisse Nahrungsfette als Träger einer wohlcharakterisierten Gruppe akzessorischer Nährstoffe, der sog. fettlöslichen Faktoren, anzusehen sind[1]). Ob nun diese fettlöslichen akzessorischen Nährstoffe mit den Lipoiden[1]) oder anderen Begleitstoffen der Nahrungsfette identisch sind, ob sie im unverseifbaren Rest oder in gewissen Gruppen der eigentlichen Fette zu suchen sind, jedenfalls steht fest, daß die Frage nach der Bedeutung der Nahrungsfette vorerst von der der fettlöslichen akzessorischen Nährstoffe nicht zu trennen ist[1]). Deshalb stellt für uns die Frage nach dem Sondernährwert der Nahrungsfette, ihrer Entbehrlichkeit oder Unentbehrlichkeit ein Teilproblem unserer Untersuchungen über die akzessorischen Nährstoff-Faktoren dar. Die Methoden der Untersuchung sind im Prinzip die gleichen, wie wir sie zur Erforschung der akzessorischen Nährstoff-Faktoren überhaupt verwenden: langdauernde Fütterungsversuche mit streng systematisch zusammengesetzten Nährstoffgemischen.

Wir sprechen stets von Nahrungsfetten und verstehen unter „Nahrungsfett" die natürlich vorkommenden Fette mit all ihren Begleitstoffen, so wie sie wirklich genossen werden. Das ist um so notwendiger, als es uns, wie bereits erwähnt, bisher ja noch nicht gelungen ist zu ergründen, welche Bestandteile der Fette ihren Sondernährwert, ihre Unersetzbarkeit durch andere

---

[1]) W. Stepp, diese Zeitschr **22**, 452. 1909. Zeitschr f Biologie **57**, 135. 1911. **59**, 366. 1912. **62**, 4 5 Deutsche med. Wochenschr 1914, Nr. 18.

Nährstoffe bedingen. Im Rahmen unserer Untersuchungen hat Rosenbaum[1]) die chemischen Eigenschaften von Nahrungsfetten verschiedener biologischer Wertigkeit studiert. Seine schon mitgeteilten Befunde deuten darauf hin, daß nicht, wie wir ursprünglich glaubten, der unverseifbare Anteil allein für die charakteristischen Unterschiede der einzelnen Nahrungsfette verantwortlich zu machen ist. Solange hierüber noch nicht völlige Klarheit geschaffen ist, scheint es uns unbedingt erforderlich, an dem Begriff des „Nahrungsfettes" in einem gewissen Gegensatz zum Fett im streng chemischen Sinne festzuhalten. Olivenöl, Lebertran, Schweineschmalz, Butter sind z. B. Nahrungsfette, die Glycerinester der Palmitin-, Stearin-, Oleinsäure usw. sind Fette im chemischen Sinne.

Unsere jetzigen Untersuchungen lehnen sich eng an die früher mitgeteilten an[2])[3]) und sollten weitere Beiträge zu der Frage liefern, welchen Einfluß die Zugabe verschiedener Nahrungsfette zu einer gemischten, fettarmen, im übrigen aber völlig ausreichenden Kost auf den Ernährungserfolg, auf Gedeihen und Wachstum, ausübt. Dabei haben wir diesmal versucht, etwas mehr zu erfahren, in welcher Weise die Nahrungsfette wirken. Mit Rücksicht auf die Ausführungen Salkowskis[4]) schien es zunächst unbedingt erforderlich festzustellen, ob der dauernde Mangel an Nahrungsfetten schließlich zu Appetitlosigkeit, Abgegessensein und daher ungenügender Nahrungsaufnahme führt. In diesem Falle würde die Schädigung durch die fettarme Ernährung auf eine quantitative Unterernährung und nur indirekt auf einen Fettmangel zu beziehen sein. Zur Klärung dieser Frage haben wir diesmal die Größe der Futteraufnahme der Tiere während 10tägiger Perioden vom Anfang bis zum Schluß der Versuche bestimmt. Wir haben ferner die Fette in einer Reihe der Versuche getrennt von der fettarmen Grundnahrung als Zulagen in längeren und kürzeren Perioden verabreicht und auf diese Weise ausgeschlossen, daß ein Unterschied im Geschmack der fettarmen und fetthaltigen Kost bestand. Die Tiere erhielten genau das

[1]) S. Rosenbaum, diese Zeitschr. **109**, 271. 1920.
[2]) H. Aron, Berl. Klin. Wochenschr. 1914, Nr. 21.
[3]) H. Aron, diese Zeitschr. **92**, 211. 1918.
[4]) E. Salkowski, diese Zeitschr. **94**, 205. 1919.

gleiche Grundfutter, ein Teil von ihnen als Zulagen Nahrungsfette, gewöhnlich mit etwas Stärke vermischt zu Pillen geformt, um sie leichter verfüttern zu können. In diesen Zulagen haben wir Nahrungsfette verschiedener biologischer Wertigkeit verabreicht, gewissermaßen äquicalorisch gegeneinander ausgetauscht, um möglichst kraß die Wirkungen nicht nur von fettarmer und fetthaltiger Kost, sondern auch ganz gleichartiger Kost mit Zulagen verschiedenartiger Nahrungsfette einander gegenüberzustellen.

Wir haben durch genaue Beobachtungen festzustellen versucht, ob sich außer den schon beschriebenen keratomalacieartigen Augenerkrankungen[1]) noch andere durch den Fettmangel bedingte charakteristische Ausfallserscheinungen einstellen und werden diese Untersuchungen durch pathologisch-anatomische Studien ergänzen lassen.

Unsere Versuche wurden wieder in der früher beschriebenen Weise an Ratten durchgeführt[2]), weil sich diese Tiere besonders unter den jetzigen beschränkten Futterverhältnissen am besten für unsere Zwecke eignen. Als Grundfutter verwandten wir diesmal Mischungen aus Mehl, Casein (Plasmon), Papier und dem früher erprobten Salzgemisch[2]). Einem Teil der Tiere haben wir zu diesem Grundfutter noch einen beträchtlichen Zusatz von Kuhmilchmolke in Form der nach dem Krauseverfahren gewonnenen Trockenmolke gegeben. Hierdurch bezweckten wir vor allem, den Tieren außer dem Casein noch Lactalbumin zu geben und, wenn möglich, die Form der Eiweißzufuhr im Sinne Osbornes und Mendels[3]), Holts[4]) zu ergänzen und zu verbessern. Dann gestalteten wir auch durch die Beigabe eines dritten fettfreien natürlichen Nahrungsmittels die Zufuhr an wasserlöslichen akzessorischen Nährstoffen reichlicher, gaben den Tieren in der Molke noch den gärungsfördernden Milchzucker und eine Anzahl mineralischer Bestandteile, welche gleichfalls für die Entwicklung nur von Vorteil sein konnten. Es sei gleich bemerkt, daß sich ein irgendwie nennenswerter Einfluß der Molkenzulage nicht gezeigt hat.

---

[1]) Frank, Goldschmidt und Freise, Monatsschr. f. Kinderheilk. **13**, 424; Arch. f. Ophthalmol. **90**.

[2]) H. Aron, Monatsschr. f. Kinderheilk. **13**, Orig. 359. 1915.

[3]) Osborne und Mendel, Journ. of Biolog. Chem. **26**, 293; **29**, 69.

[4]) L. G. Holt, Arch. of ped. **33**, 33.

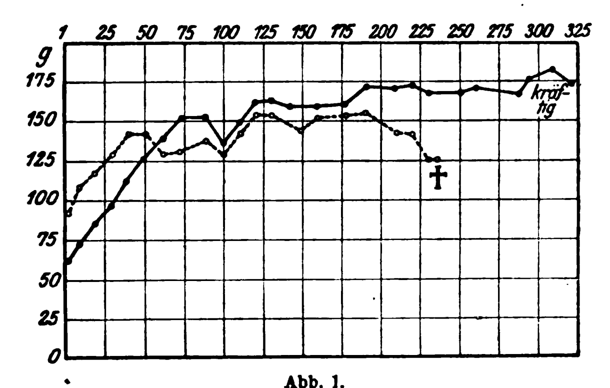


Abb. 1.

Tier Nr. 812, ♂ •—•—• Nahrung:		Tier Nr. 281, ♂ o—o—o Nahrung:	
Lebertran	60		—
Casein	140	Casein	140
Weizenmehl (80 proz.)	1000	Weizenmehl (80 proz.)	1000
Trockenmolke	200	Tockenmolke	800
Papier	120	Papier	120
Salzmischung	1	Salzmischung	1

Betrachten wir jetzt die Versuche im einzelnen. 3 Tiere erhielten das oben beschriebene Grundfutter mit Molke ohne Fettzusatz, 4 andere mit einem Zusatz von 4% Lebertran, 2 weitere mit einem solchen von 4% Margarine. Die 4 mit Lebertranzusatz ernährten Tiere blieben während der ganzen Beobachtungszeit gesund und kräftig. 2 Tiere wurden 180 bzw. 185 Tage beobachtet; ein mit dem genau gleichartigen, aber 4% Margarine enthaltenden Futter ernährtes Vergleichstier war nach 180 Tagen abgemagert gestorben. Ein zweites Tier, das dieses 4% Margarine enthaltende Futter bekam, ging nach 225 Tagen zugrunde, während die beiden mit der 4% Lebertran enthaltenden Nahrung gefütterten Vergleichstiere, welche 320 bzw. 400 Tage beobachtet wurden, sich die ganze Zeit hindurch bei bestem Wohlbefinden erhielten. Von den

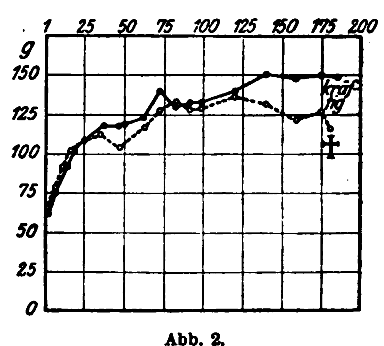


Abb. 2.

Tier Nr. 353, ♀ •—•—•

Nahrung:

Lebertran	50
Casein	125
Weizenmehl (80 proz.)	1000
Papier	50
Salzmischung	1

Tier Nr. 356, ♀ o--o--o

Nahrung:

Margarine	50
Casein	125
Weizenmehl (80 proz.)	1000
Papier	50
Salzmischung	1

3 mit dem Grundfutter + Molke *ohne* Fettzulagen ernährten Tieren starb ein junges nach 15 Tagen, 2 ältere nach 235 bzw. 330 Tagen. Dies letztere Tier hatte 33 Tage Butter in Menge von 0,5 g täglich getrennt vom Grundfutter erhalten; seine Lebensdauer wurde dadurch um etwa 100 Tage verlängert, ohne daß das Tier aber ebensolange wie die dauernd mit lebertranhaltigem Futter ernährten Tiere gesund und kräftig erhalten blieb. *Wie früher unsere mit einem Butterzusatz von wenigen Prozent gefütterten Ratten blieben hier die mit einem Zusatz von Lebertran ernährten während der ganzen Beobachtungszeit (bis zu 400 Tagen) gesund und kräftig. Die Tiere, welche dagegen an Stelle des Lebertrans den gleichen Prozentsatz an Margarine im Futter bekamen, gingen genau so nach etwa 200 Tagen zugrunde, wie die ohne einen besonderen Zusatz von Nahrungsfett mit dem Grundfutter allein ernährten Ratten* (vgl. Kurve 1 und 2).

Soweit liefern diese Versuche also nur eine Bestätigung der Tatsache, daß Lebertran ebenso wie in unseren früheren Versuchen Butter, als biologisch hochwertiges Nahrungsfett einer fettarmen Kost zugesetzt, Leben und Gesundheit der Tiere zu erhalten vermag, während Margarine als biologisch minderwertiges Nahrungsfett dazu nicht imstande ist. *Also nicht die Frage, ob die Nahrung Fett enthält, sondern welches Nahrungsfett in ihr verabreicht wird, ist entscheidend für ihren Wert und ihre Wirkung.*

Wir kommen nunmehr zu der Frage, ob die zugrunde gegangenen Tiere an Inanition gestorben sind, weil sie ungenügende Mengen der ihnen stets in reichlichstem Maße angebotenen Nahrung aufgenommen haben, oder ob *trotz genügender Gesamtnährstoffaufnahme* nur der Mangel an gewissen Nahrungsfettbestandteilen als Ursache des Todes aufzufassen ist. Wir vergleichen 4 männliche Tiere, von denen 2 mit dem Grundfutter allein, 2 mit dem lebertranhaltigen Futter ernährt wurden und finden:

Tägliche Futteraufnahme im Durchschnitt	Grundfutter allein	19,5 g; 17,5 g
	lebertranhaltiges Futter	17,3 g; 16,5 g

Da das lebertranhaltige Futter höchstens 10% Calorien mehr in der Gewichtseinheit liefern dürfte als das fettarme Grundfutter, kann von einer wesentlichen Unterernährung nicht die Rede sein. Dagegen scheint, kurz ehe die Tiere zugrunde gehen, 10 oder 20 Tage vor dem Tode, ein gewisses, aber nicht sehr bedeutendes Herabgehen der Futteraufnahme einzutreten.

Die zweite Gruppe von Tieren erhielt ausschließlich das Grundfutter aus Mehl, Casein, Papier und Salzen. Dazu erhielten die einzelnen Tiere Zulagen von Butter, Lebertran, Eigelbfett, Margarine getrennt von der Grundnahrung verschieden lange Zeiträume hindurch. Die Anordnung der Versuche und die damit erzielten Erfolge zeigt nachstehende Tabelle:

Zulage		Erfolg
Art	Dauer	
0,5 g Margarine . .	57 Tage	nach 57 Tagen † (plötzlich)
0,5 g Margarine . . 0,5 g Eigelbfett . .	45 „ 4 „	„ 93 „ †
0,5 g Butter . . .	33 „	„ 139 „ †
0,5 g Butter . . . 0,5 g Margarine . .	43 „ 35 „	„ 260 „ †
0,5 g Butter . . . 1,0 g Butter . . .	61 „ 57 „	180 Tage kräftig, dann Versuch abgebrochen.
0,5 g Butter . . . 1,0 g Butter . . . 0,75 g Eigelbfett . .	63 „ 43 „ 49 „	183 Tage kräftig, dann Versuch abgebrochen.
0,75 g Eigelbfett . .	90 „	199 Tage kräftig, dann Versuch abgebrochen.
0,5 g Lebertran . . 0,75 g Eigelbfett . .	22 „ 100 „	180 Tage kräftig, dann Versuch abgebrochen.

Getrennt vom Futter verabreicht, wirken Butter, Lebertran, Eigelbfett als biologisch hochwertige Nahrungsfette, die Margarine wieder als biologisch minderwertiges.

Auch die Dauer der Zulage eines biologisch hochwertigen Fettes scheint von entscheidender Bedeutung. Charakteristisch ist auch hier wieder, daß die Tiere bis kurz vor ihrem Tode anscheinend gut gedeihen, dann trotz weiter guter Nahrungsaufnahme im Gewicht abstürzen und meist unter starkem Gewichtsverlust zugrundegehen. So sehen wir, daß Tiere von einem Höchstgewicht von 125—140 g auf etwa 100 g heruntergehen.

Schon dieser plötzliche Absturz, ebenso aber auch die Zahlen für die Futteraufnahme in den jeweils letzten 10 Beobachtungstagen zeigen, daß bei den Tieren, welche infolge zu geringer oder minderwertiger Fettzulagen zugrundegegangen sind, von einer Inanition durch quantitative Unterernährung kaum die Rede sein kann. Auch ein Vergleich der durchschnittlichen täglichen Nahrungsaufnahme einiger Tiere zeigt uns bei Margarinezulage etwa die gleichen Zahlenwerte wie bei Zulage von Eigelbfett, Butter und Lebertran.

Über die aufgenommenen Nahrungsmengen gibt kurz folgende Übersicht Auskunft:

Tier Nr.	Geschlecht	Zulage	Anfangsgewicht g	Endgewicht g	Lebensdauer	Durchschn. tägl. Nahrungsaufn. g
358	♀	Lebertran / Eigelbfett	52	121	180 Tage, kräftig	12,04
335	♀	Eigelbfett	83	141	199 „ „	14,0
329	♀	Margarine	91	88	nach 93 Tagen †	12,57
313	♂	Butter 33 Tage	87	97	„ 139 „ †	14,96
352	♂	„ 118 „	64	133	180 Tage, kräftig	11,7

Während der Perioden der Fettzulagen geht häufig die freiwillige Aufnahme an Grundfutter etwas herunter. Noch eindrucksvoller tritt die Tatsache, daß durch die Fettzulagen die Aufnahme an Grundfutter vermindert wird, bei folgendem Vergleich zutage. Das 118 Tage mit täglichen Butterzulagen gefütterte Tier (Nr. 352) fraß im Durchschnitt täglich 11,7 g Grundfutter, während bei dem nur 33 Tage mit Butterzulagen ernährten Tiere (Nr. 313) die täglich verzehrte Menge des Grundfutters 14,96 g betrug; trotzdem ging dieses letzte Tier nach 130 Tagen unter starker Gewichtsabnahme zugrunde. Eine verminderte Appetenz und eine dadurch hervorgerufene ungenügende Gesamtnährstoffaufnahme kann also nicht daran schuld sein, daß die Tiere sterben, auch wenn dem Tode Gewichtsabnahme und manche Erscheinungen der Inanition vorangehen. Im Gegenteil, wir erbringen hier wohl zum ersten Male in einwandfreier Weise den Nachweis, daß bei dauernd fettarmer Ernährung ebenso wie bei Zufuhr biologisch minderwertiger Nahrungsfette trotz ausreichender Gesamtnährstoffaufnahme

Gewichtssturz, Abmagerung, Tod eintritt, während gleichartig ernährte Tiere, die außerdem eine ausreichende Menge eines biologisch hochwertigen Nahrungsfettes erhalten, am Leben bleiben, obwohl der calorische Wert der von ihnen aufgenommenen Nahrung nicht höher ist als der der ersten beiden Gruppen (vgl. folgende Kurven).

Die Erscheinung, daß bei fortgesetzt fettarmer Ernährung die Tiere schließlich trotz genügender Nahrungsaufnahme ihr

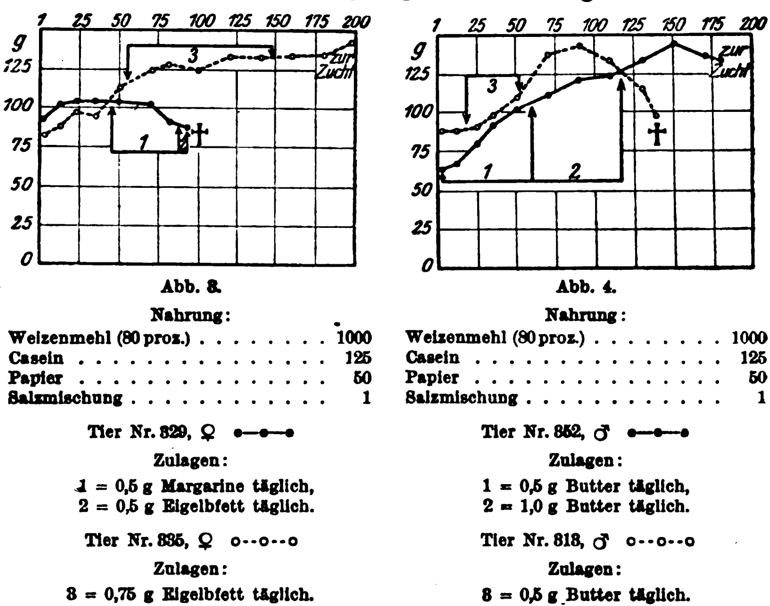


Abb. 3.

Nahrung:

Weizenmehl (80 proz.)	1000
Casein	125
Papier	50
Salzmischung	1

Tier Nr. 829, ♀ •—•—•

Zulagen:

1 = 0,5 g Margarine täglich,
2 = 0,5 g Eigelbfett täglich.

Tier Nr. 835, ♀ o--o--o

Zulagen:

3 = 0,75 g Eigelbfett täglich.

Abb. 4.

Nahrung:

Weizenmehl (80 proz.)	1000
Casein	125
Papier	50
Salzmischung	1

Tier Nr. 852, ♂ •—•—•

Zulagen:

1 = 0,5 g Butter täglich,
2 = 1,0 g Butter täglich.

Tier Nr. 818, ♂ o--o--o

Zulagen:

3 = 0,5 g Butter täglich.

Körpergewicht nicht mehr halten können, so daß wir die Gewichtskurve steil abstürzen sehen, ist nur so zu erklären, daß der Organismus die Fähigkeit verloren hat, die aufgenommenen Nährstoffe in normaler Weise zu verwerten. Wie man sich dieses Erlahmen des Stoffwechsels vorzustellen hat, werden wir in anderem Zusammenhange darlegen. Für die uns hier interessierenden Fragen genügt die Feststellung, daß nicht quantitative Unterernährung, sondern Mangel an bestimmten in den biologisch hochwertigen Fetten enthaltenen akzessorischen Nährstoff-Faktoren schließlich dazu führt, daß bei einer dauernd fettarmen Ernährung die Tiere auch bei ausreichender Gesamtfutteraufnahme

die normalen Stoffwechselfunktionen nicht mehr zu erfüllen vermögen. Rechtzeitig einsetzende Zufuhr biologisch hochwertiger Fette (z. B. Eigelbfett, Butter, Lebertran) erhält die Stoffwechselfunktionen auf normaler Höhe. Wurden aber diese Fette erst in der Periode des Absturzes gegeben, wenn also die Funktionen des Organismus schon erlahmt sind, so gelang es in unseren Versuchen nicht mehr, den Verfall der Tiere aufzuhalten. Wir haben deshalb in 2 Versuchen den Lebertran in den letzten Stadien subcutan injiziert. Man hatte wohl den Eindruck, daß nach diesen Injektionen die Ratten sich zeitweilig erholten, es ist uns aber bisher nicht gelungen, die fettarm ernährten Tiere durch subcutane Lebertraninjektion zu retten und dauernd am Leben zu erhalten. Vielleicht wird das subcutan injizierte Fett zu langsam resorbiert, möglicherweise haben wir auch zu spät mit den Injektionen begonnen.

Ebensowenig wie mit der Zufuhr biologisch hochwertiger Nahrungsfette haben wir mit Teilprodukten dieser Fette in der letzten Absturzperiode des Fettmangels Heilwirkungen erzielen können. Weder der unverseifbare Anteil aus Lebertran und Frauenmilchfett, noch das aus diesen gewonnene Cholesterin, noch schließlich auch Eigelblecithin vermochten die Tiere zu retten. Aus diesen Beobachtungen ergibt sich für uns, daß es künftighin nötig sein wird, diese eben genannten Teilprodukte biologisch hochwertiger Nahrungsfette von vornherein an Stelle der Zulagen des Gesamtnahrungsfettes zu verfüttern, um festzustellen, welches Teilprodukt Träger des Sondernährwertes der Nahrungsfette ist. Allerdings werden dazu unverhältnismäßig größere Mengen dieser Produkte erforderlich sein, als wir sie bisher zur Erprobung akuter Heilwirkungen dargestellt haben.

Vergeblich haben wir uns bemüht, unseren fettarm ernährten Ratten Zulagen von Frauenmilchfett zu verabreichen. Während Butter, frisch und ranzig, unser durch Auskochen mit Alkohol aus Eigelbtrockenpulver gewonnenes Eigelbfett und auch Lebertran, rein oder mit Stärke vermischt, von den Tieren gern genommen wurden, verweigerten diese konstant die Aufnahme des Frauenmilchfettes, das wir aus den Rückständen bei der Darstellung zentrifugierter Frauenmilch durch Alkohol-Ätherextraktion in monatelanger mühevoller Arbeit gesammelt hatten. Es wäre

uns besonders interessant gewesen, die Wertigkeit auch des Frauenmilchfettes im Tierversuch zu erproben, weil wir auf Grund klinischer Erfahrungen ja das Frauenmilchfett als ein wenigstens für den menschlichen Säugling besonders hochwertiges Nahrungsfett hingestellt hatten[1]).

In der amerikanischen Literatur ist es üblich geworden, die akzessorischen Nährstoffe in 3 Gruppen einzuteilen: „A" fettlösliche oder wachstumsfördernde, „B" wasserlösliche oder antineuritische, „C" antiskorbutische Vitamine. Während die Amerikaner also die wichtigste Funktion der fettlöslichen akzessorischen Nährstoff-Faktoren in ihrer wachstumsfördernden Kraft erblicken, wollen Chick[2]), Mellanby[3]) u. a.[4]) neuerdings diese als „antirachitisches Vitamin" betrachtet wissen. Wenn überhaupt das fettlösliche Vitamin antirachitisch wirkt, so ist diese Eigenschaft nur eine der mannigfachen Stoffwechselwirkungen, welche die fettlöslichen akzessorischen Nährstoff-Faktoren auszuüben vermögen, und die Bezeichnung „antirachitisches Vitamin" ist als pars pro toto sicherlich zu verwerfen. Aber auch der Name „wachstumsförderndes Vitamin" ist nach unserer Auffassung nicht angebracht; denn wachstumssteigernde oder richtiger ansatzfördernde Wirkungen haben die wasserlöslichen akzessorischen Nährstoff-Faktoren unter bestimmten Bedingungen mindestens ebenso wie die fettlöslichen.

In unseren Versuchen nahmen die mit Margarinemischungen gefütterten Tiere anfangs im Gewicht ebenso zu wie die mit lebertran- oder butterhaltigen Nahrungsgemischen ernährten. Sogar die ohne Fettzusatz mit Mehl, Eiweiß, Papier, (Molke) und Salzen gefütterten Ratten wuchsen anfangs nicht schlechter als die mit Fettzulagen ernährten. Also auch bei sehr geringem Gehalt an fettlöslichen akzessorischen Faktoren in der Nahrung, die sich hier im Mehl finden, kann die Gewichtszunahme eine Zeitlang ganz normal sein. Bei ge-

---

[1]) H. Aron, Berl. klin. Wochenschr. 1918, S. 546.

[2]) H. Chick, Wien. med. Wochenschr. 1920, Nr. 9.

[3]) M. Mellanby, Lancet 9, 12. 1918.

[4]) Medical Research Commitee, Report of the present state of Knowledge concerning accessory food factors (Vitamines) London 1919.

nügend langer Dauer der Versuche werden dann aber die Unterschiede bemerkbar. In diesem Stadium tritt z. B. bei den Tieren 301 und 323 auf die Zulage eines biologisch hoch-

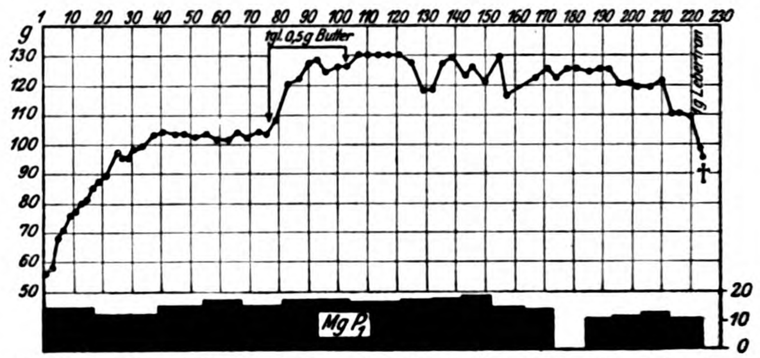


Abb. 5. Tier Nr. 301, ♀. Ansatzfördernde Wirkung einer Butterzulage getrennt von einer, ein biologisch minderwertiges Nahrungsfett enthaltenden Grundnahrung, bestehend aus: Margarine 50, Weizenmehl (80 proz.) 1000, Casein 125, Papier 50, Salzmischung 1.

wertigen Nahrungsfettes der Anstieg der vorher abgeflachten Gewichtskurve deutlich zutage. Wir sehen also, daß die biologisch hochwertigen Nahrungsfette ebenso unter gewissen Bedingungen

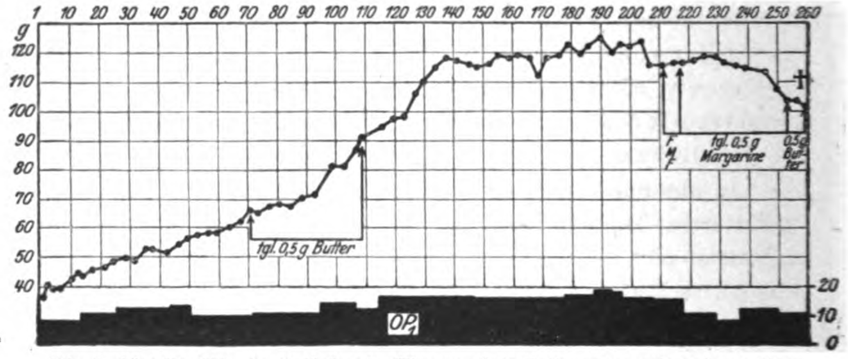


Abb. 6. Tier Nr. 323. Ansatzfördernde Wirkung einer Butterzulage getrennt von einer fettarmen (-freien) Grundnahrung, bestehend aus: Weizenmehl (80 proz.) 1000, Casein 125, Papier 50, Salzmischung 1. [F.-M.-F. Frauenmilchfett.]

wachstumssteigernd oder ansatzfördernd wirken, wie sie im ganzen die Stoffwechselfunktionen aufrechterhalten (vgl. Kurven 5 u. 6). Beide Erscheinungen sind Ausdruck der regulatorischen Wirkung der fettlöslichen akzessorischen Nährstoff-Faktoren.

Unsere Versuche zeigen mit überzeugender Deutlichkeit die hohe lebenswichtige Bedeutung der fettlöslichen akzessorischen

Nährstoff-Faktoren, wie wir sie in den biologisch hochwertigen Nahrungsfetten: Lebertran, Butter, Eigelbfett finden, in der Margarine aber vermissen. Der eminente Einfluß von Größe und Art des Fettzusatzes zur Nahrung kann nach diesen und unseren früheren Versuchen kaum noch bezweifelt werden. Während wir nun bisher annahmen, daß vor allem die tierischen Organfette im Gegensatz zu den Depotfetten, wie Schweineschmalz, die wichtigsten Träger der fettlöslichen akzessorischen Nährstoff-Faktoren seien, sind nach neueren Untersuchungen auch gewisse pflanzliche Fette als biologisch hochwertig zu betrachten. Schon aus den Untersuchungen Edelsteins und Langsteins[1]) ging hervor, daß das Rüböl nicht als biologisch minderwertig angesehen werden kann. Osborne und Mendel[2]) zeigten dann, daß dem Fettkörper des Spinats ähnliche wachstumsfördernde Wirkungen zukommen wie dem Butterfett und Lebertran. Nach den neuesten Untersuchungen von Steenbock, Boutwell und Mitarbeitern[3]) sowie von Zilva[4]) sind die Fette einer ganzen Reihe vor allem karotinhaltiger Vegetabilien (Karotten, Artischockenblätter, Alfalfagras usw.) als biologisch hochwertig zu betrachten. Die Feststellung, daß es ebenso, wie es biologisch hoch- und minderwertige tierische Nahrungsfette auch biologisch hoch- und minderwertige pflanzliche Nahrungsfette gibt, ist praktisch von größter Bedeutung. Vielleicht ist der Tierkörper, der ja überhaupt geringere synthetische Fähigkeiten als der Organismus der Pflanzen besitzt, gar nicht imstande, die fettlöslichen akzessorischen Nährstoff-Faktoren zu bilden, sondern er sammelt sie nur aus den pflanzlichen Fetten und speichert sie in seinen Organfetten. So erklären sich möglicherweise die schon beobachteten Schwankungen im Gehalt fettlöslicher Faktoren in der Milch und dem Milchfett (Butter) bei verschiedener Fütterung der Kühe.

[1]) F. Edelstein und L. Langstein, Zeitschr. f. Kinderheilk. **16**, 305. 1917; **17**, 255. 1918.

[2]) Th. B. Osborne und L. R. Mendel, Journ. of Biolog. Chem. **41**, 549. 1920.

[3]) H. Steenbock, Boutwell und Mitarbeiter, Journ. of Biolog. Chem. **41**, 149 und **42**, 131. 1920.

[4]) S. S. Zilva, Biochem. Journ. **14**, 494. 1920.

Der Nachweis der hohen biologischen Wertigkeit gewisser vegetabilischer Fette, speziell der der grünen Gemüse, liefert uns auch den Schlüssel für die Beobachtungen Hindhedes[1]), daß Menschen bei sehr reichlicher vegetabilischer Kost über ein Jahr ohne jeden Zusatz anderer Nahrungsfette sich gesund und kräftig erhalten konnten. Mit den geradezu Riesenmengen von Gemüsen, welche Hindhedes Versuchspersonen zu bewältigen vermochten, nahmen sie wahrscheinlich genügende Mengen fettlöslicher akzessorischer Nährstoffe auf. Ob sich aber eine solche Ernährungsform beim Menschen ohne ganz besonderes Training überhaupt durchführen läßt, muß wohl als sehr fraglich bezeichnet werden. Wir möchten es mit von Noorden und Salomon[2]) auch bezweifeln, daß es im allgemeinen möglich ist, „eine auf längere Zeit genießbare Kost zusammenzustellen, die weniger als 20—30 g Fett am Tage enthält".

Zusammengefaßt liefern unsere Versuche einen weiteren Beweis dafür, daß gewissen Nahrungsfetten völlig unabhängig von ihrem Brennwert ein Sondernährwert zukommt, den wir auf gewisse in diesen Fetten enthaltene akzessorische Nährstoff-Faktoren beziehen müssen. Die Wirkung dieser Nährstoff-Faktoren äußert sich darin, daß die Tiere ihre Stoffwechselfunktionen dauernd aufrechtzuerhalten vermögen und daher bei im übrigen gleicher Nahrung besser an Gewicht zunehmen und länger am Leben bleiben als fettarm oder mit biologisch minderwertigen Nahrungsfetten gefütterte Vergleichstiere. Dabei handelt es sich nicht um eine Geschmackswirkung; denn die Wirkung der biologisch hochwertigen Nahrungsfette tritt ebenso zutage, wenn das Fett dem Futter zugesetzt, als wenn es getrennt von ihm verabreicht wird. Auch die Größe der Futteraufnahme wird durch den Zusatz des Nahrungsfettes nicht wesentlich beeinflußt. Durch Bestimmung der Nahrungsmengen wurde der Nachweis erbracht, daß dauernd fettarm oder mit Zusatz eines biologisch minderwertigen Nahrungsfettes ernährte Tiere trotz vollkommen ausreichender Gesamtnährstoffaufnahme nach längerer Zeit im Körpergewicht

[1]) M. Hindhede, Skandinav. Arch. f. Physiol. 39, 78.

[2]) E. v. Noorden und H. Salomon, Handbuch der Ernährungslehre I. S. 1008. 1920.

abstürzen und zugrundegehen. Mit Margarine in oder zu der Nahrung gefütterte Tiere gedeihen auf die Dauer unvergleichlich schlechter als Tiere, die unter ganz gleichen Bedingungen Butter, Lebertran oder Eigelbfett erhalten. Die Dauer der Verabreichung dieser biologisch hochwertigen Fette ist ausschlaggebend für den Ernährungserfolg. Der in dem Gehalt an fettlöslichen akzessorischen Nährstoffen begründete Sondernährwert der einzelnen Nahrungsfette fordert unbedingt, der Art, der Dauer und der Größe der Fettzufuhr in der Nahrung größte Bedeutung beizumessen.

Über die Adsorption durch Kohlenstoff.

Von

Heinrich Herbst.

(Eingegangen am 15. Januar 1921.)

Mit 1 Abbildung im Text.

I.

Am Kaiser Wilhelm-Institut für physikalische Chemie und Elektrochemie, Dahlem, hatte ich während des Krieges und daran anschließend Gelegenheit, mich mit der Frage der Verbesserung der Adsorptionsleistung von Holzkohlen zu befassen, welche Untersuchungen ich zum Teil in einer gleichlautenden Dissertation (Berlin 1920) niedergelegt habe. Hier möchte ich einige Ergebnisse meiner Untersuchungen kurz zusammenfassen.

Die erste Frage, die einmal prinzipiell geklärt werden mußte, war folgende: Beruht die Adsorptionsleistung von Holzkohlen lediglich auf der Größe der Oberfläche, der mehr oder weniger guten Oberflächenausbildung bzw. Porosität, wie man bisher annahm, oder kommt es auch darauf an, aus was die Oberfläche besteht, welche chemische Zusammensetzung die Oberfläche hat usw.? — Es wird hier unter „Oberfläche" die gesamte äußere und innere Oberfläche des porösen Körpers verstanden. — Es lag daher nahe, zu untersuchen, ob sonstigen Kohlenstoffverbindungen wie Watte u. dgl. und anderen Stoffen, die auch eine gute Oberflächenausbildung zeigen, überhaupt eine Adsorptionsleistung zukommt. Außerdem war es wichtig, darüber einen Überblick zu gewinnen, in welcher Größenordnung die Adsorptionsleistung anderer Stoffe im Verhältnis zur Adsorptionsleistung des Kohlenstoffes liegt. Es wurden daher unter anderem folgende Stoffe z. B. in ihrem Verhalten gegen Kohlensäure untersucht:

1. Chemisch reine Watte; 2. getrocknetes Holz; 3. Paraffin;

4. feinpulverisierter Zucker; 5. Kieselsäure; 6. Aluminiumstaub; 7. Zinkstaub.

Das zur Untersuchung gelangende Material wurde in feiner Zerteilung angewandt. Für jeden Versuch kamen jeweils 1,00 g zur Anwendung.

Es zeigte sich, daß für keinen der obigen Stoffe eine Adsorptionsleistung für Kohlensäure nachgewiesen werden konnte. Es ist also praktisch bei obigen Stoffen überhaupt keine Adsorptionsleistung für Kohlensäure vorhanden, oder aber die Adsorptionsleistung liegt unterhalb der Genauigkeit meiner Meßmethode, d. h. sie ist mindestens ungefähr tausendmal kleiner als die Leistung des Kohlenstoffes. Sie würde also in einer ganz anderen Größenordnung liegen.

Es ist sehr charakteristisch, daß derartige abgesättigte Kohlenstoffverbindungen wie Paraffin und Zucker und Cellulose keine Adsorptionsleistung für Kohlensäure zeigen, trotzdem die molekulare Oberflächenausbildung der lebenden Zelle wahrscheinlich ebensogut und gleichmäßiger ist als die der durch den Verkohlungsprozeß zerstörten Zellen.

Ich machte nun weiter folgende Versuche: die reine Watte wurde einem Verkohlungsprozeß unterworfen und es zeigte sich, daß sobald freier, also chemisch nicht abgesättigter Kohlenstoff entstanden war, auch die Adsorptionsleistung vorhanden war. Dasselbe Ergebnis erhielt ich, wenn ich den Zucker einer Verkohlung unterwarf. Die obigen Versuche legen also nahe, daß das hohe Adsorptionsvermögen eine spezifische Eigenschaft des reinen, freien, chemisch nicht abgesättigten Kohlenstoffes ist. Die Versuche zeigen auch weiter, daß es für die Adsorptionsleistung nicht allein darauf ankommt, daß eine gut ausgebildete Oberfläche vorliegt, sondern es kommt auch mit darauf an, aus was die „Oberfläche" besteht, d. h. auf die chemische Natur der Oberfläche.

Die obigen Befunde bestätigen und ergänzen also die Versuche von L. Michaelis und P. Rona[1]), die unter anderem das Adsorptionsvermögen von Cellulose in Lösung untersuchten. Sie fanden, daß das Adsorptionsvermögen der Cellulose gegenüber oberflächenaktiven Nichtelektrolyten praktisch so gut wie nicht vorhanden ist.

[1]) L. Michaelis und P. Rona, diese Zeitschr. **102**, 268; **103**, 19.

II.

Von den in der Technik hergestellten Holzkohlen zeigen manche eine sehr geringe, manche eine gute Adsorptionsleistung. Diese Unterschiede wurden bisher hauptsächlich auf die mehr oder weniger gute Oberflächenausbildung (bzw. Porosität) geschoben; das ist aber nicht ganz richtig, sondern ich konnte zeigen, daß die Adsorptionsleistung in erster Linie von dem Kohlenstoffgehalt der betreffenden Holzkohle abhängig ist. Um diese Frage zu klären, stellte ich mir auf verschiedenem Wege Holzkohlenprodukte guter Oberflächenausbildung, aber mit verschieden hohem Kohlenstoffgehalt her. Es ergab sich nun, daß diese Holzkohlenprodukte, ausgehend von getrocknetem Holz, welches keine Adsorptionsleistung zeigte, mit steigendem Kohlenstoffgehalt und abnehmendem Wasserstoffgehalt, also mit fortschreitender Reindarstellung des Kohlenstoffes eine steigende Adsorptionsleistung aufwiesen, welche bei reinem Kohlenstoff einen maximalen Wert annahm. Damit war also der Beweis dafür erbracht, daß dem reinen Kohlenstoff für ein bestimmtes Adsorptiv eine ganz bestimmte konstante Adsorptionsleistung zukommt.

Es wurde nämlich vielfach beobachtet, daß Adsorptionskohlen mit schlechter Leistung auch von Wasser viel schlechter benetzt werden als gute Adsorptionskohlen. Da die schlechte Benetzbarkeit auf die Gegenwart von teerartigen Verunreinigungen geschoben wurde, so ließ sich hieraus die Folgerung ziehen, daß man die Leistung schlechter Kohlen durch Entfernen der Verunreinigungen müßte steigern können. Dies geschah in der Tat auf verschiedenen Wegen:

1. Durch Herauslösen der Verunreinigungen mit organischen Lösungsmitteln wie Benzol, Äther, Schwefelkohlenstoff, Pyridin, Aceton; die Behandlung der Kohle geschieht dabei am besten unter erhöhtem Druck, weil unter erhöhtem Druck mehr herausgelöst wird. Wesentlich ist dabei, daß das organische Lösungsmittel wieder restlos entfernt wird.

2. Durch Herausdestillieren der Verunreinigungen, entweder durch Glühen bei gewöhnlichem Druck oder durch fraktionierte Vakuumdestillation; die Verunreinigungen konnten dabei in geringer Menge gewonnen werden.

3. Durch geeignete chemische Mittel, durch die die Verunreinigungen entweder entfernt oder in Kohlenstoff verwandelt werden, so wurde z. B. Erhitzen mit Wasserstoff oder mit Chlor angewandt. Außerdem wurden u. a. die Kohlen mit Kaliumcarbonat, Natriumcarbonat oder Magnesium geschmolzen.

Die bekannten Verfahren zur Herstellung guter Adsorptionskohlen, so das Behandeln mit $ZnCl_2$ in dem Aussiger Verfahren, lassen sich dadurch erklären, daß bei ihnen die Bildung teerartiger Verunreinigungen bis zu einem gewissen Grade vermieden wird.

Nach diesen Versuchen ist sehr wahrscheinlich, daß der reine Kohlenstoff der Träger des Adsorptionsvermögens in den Adsorptionskohlen ist.

In der folgenden Tabelle sind einige Versuche zusammengestellt, die die Abhängigkeit des Gehaltes an aktiv wirksamem Kohlenstoff vom wirklichen, analytisch bestimmten Gesamtkohlenstoff und Wasserstoff zeigen.

Tabelle I.

Nr.		C %	H %	Glührückstand %	Aktivität (A) = aktiver Kohlenstoff %
1	Holz bei 150° getrocknet	45,8	6,3	0,21	0
2	Hainbuchenkohle gewöhnlich	73,66	2,87	1,33	25,1
3	Hainbuchen-Vakuumkohle	80,34	1,94	3,32	57,4
4	Leverkusenkohle gereinigt	86,56	1,53	1,39	52,5
5	Spezialkohle	87,33	1,04	2,73	73,1
6	Hainbuchen-Wasserstoffkohle	89,25	0,72	2,73	70,6
7	Kiefernspäne-Chlorkohle	89,38	0,35	0,73	89
8	Magnesiumkohle	97,8	0,08	0,65	97,5
9	Merck, Tierblutkohle	75,76	0,63	10,65	65

Bei einem Kohlenstoffgehalt von 45% und weniger ist keine Leistung vorhanden. Bei 70% Kohlenstoffgehalt sind ca. 20% aktiv, bei 80% Kohlenstoffgehalt dagegen sind schon 60% aktiv, bei 90% Kohlenstoffgehalt dagegen sind schon 89% aktiv. Man ersieht also deutlich die Steigerung der Adsorptionsleistung mit zunehmendem Kohlenstoffgehalt und abnehmendem Wasserstoffgehalt.

Die Kurve gilt nur für chemische Verunreinigung des Kohlenstoffes. Es ist auch denkbar, daß die Kohle mechanische Verunreinigungen enthält, wie z. B. unlösliche Silikate; durch unlös-

liche Salze wird die Aktivität nicht oder weniger stark herabgesetzt. Einen solchen Fall haben wir z. B. in der Tierblutkohle, die bei einem Kohlenstoffgehalt von 75,76% und Wasserstoffgehalt 0,63% und Glührückstand von 10,65% (meistens in Wasser und Salzsäure unlösliche Silikate) eine Aktivität von ca. 65% hat. Daß die Aktivität größer ist, ersieht man schon aus dem geringen Wasserstoffgehalt. Die Tierblutkohle ist natürlich wegen ihres hohen Gehaltes an Salzen für manche Adsorptionsuntersuchungen wenig geeignet, besonders wenn es darauf ankommt, die Austauschadsorption[1]) zu vermeiden.

Auch die guten technischen Adsorptionskohlen haben in der Regel den maximalen Gehalt an reinem Kohlenstoff und damit die höchste Adsorptionsleistungsfähigkeit nicht erreicht. Die, Leistung von guten Adsorptionskohlen konnte praktisch noch erheblich gesteigert werden.

Die Leistung einer Adsorptionskohle oder die „wahre" Aktivität (A) wird bestimmt, indem man feststellt, wieviel Prozent Kohlenstoff wirksam sind, und zwar wird die wahre Aktivität gegen ein möglichst klein-molekulares Gas gemessen, aus Gründen, die noch zu erörtern sind! Ich selber verwandte für meine technischen Versuche Kohlensäure, hätte aber noch besser Stickstoff oder Wasserstoff nehmen können.

Durch die Reindarstellungsversuche des Kohlenstoffes war es mir nun z. B. gelungen, festzustellen, wieviel Kohlensäure der reine „aktive" Kohlenstoff maximal unter bestimmten Bedingungen aufnimmt.

Um nun die wahre Aktivität (A) irgendeiner Kohle zu bestimmen, braucht man also nur eine Adsorptions-Isotherme für Kohlensäure aufzunehmen und schon weiß man, wieviel Prozent Kohlenstoff wirksam sind. — Wir sind also heute jederzeit in der Lage, die wahre Aktivität irgendeines Kohlenpräparates festzustellen und damit ist auch die Möglichkeit gegeben, die quantitativen Gewichtsbeziehungen zwischen dem Adsorbens Kohlenstoff und den verschiedensten Adsorptiven festzustellen und zu sehen, ob wir es besonders im „Sättigungszustand" mit bestimmten konstanten „chemischen" Gewichtsbeziehungen zu tun haben.

[1]) L. Michaelis und P. Rona, diese Zeitschr. 1919, S. 97.

III.

Für die technische Adsorptionsleistung einer Kohle ist nicht nur das statische Adsorptionsvermögen maßgebend, sondern namentlich auch ihre Porosität. Dabei muß man zwischen der gewöhnlichen, groben Porosität und einer Ultraporosität unterscheiden. Die gewöhnliche Porosität kann man in der Weise messen, daß man das wahre und scheinbare spezifische Gewicht der Kohle mit Wasser und Quecksilber als Pyknometerflüssigkeit bestimmt. Die gewöhnliche grobe Porosität hat keinen wesentlichen Einfluß auf die Höhe der Adsorptionsleistung, d. h. auf die adsorbierte Menge oder die wahre Aktivität, wie aus der folgenden Tabelle hervorgeht, in der die Porosität und Aktivität, einiger Holzkohlensorten zusammengestellt sind:

Tabelle II.

Nr.	Kohlensorte	Porosität %	Aktivität (A) %
1	Spezial	78,7	73,1
2	Chlorkohle	77,3	89
3	Leverkusenkohle	69,0	52,5
4	Hainbuchen-Wasserstoffkohle . .	62,3	70,6
5	Hainbuchenkohle	53,7	25,1
6	Wallnußkohle	37,4	61
7	Kokosnußkohle	15,15	60

Wenn die Auffassung, daß die Adsorptionsleistung und damit die Aktivität der Oberflächenausbildung F, also auch der Porosität proportional sei, richtig wäre, so müßte eine lineare Beziehung zwischen Aktivität und Oberflächenausbildung bestehen. Daß dies aber nicht der Fall ist, geht aus der obigen Tabelle klar und deutlich hervor. Man kann beim besten Willen keine Beziehung zwischen der gewöhnlichen Porosität und der wahren Aktivität feststellen.

Die gewöhnliche Porosität ist dagegen von ausschlaggebender Bedeutung für die technische Adsorptionsgeschwindigkeit.

Die Adsorptionsgeschwindigkeit hängt eng mit der Porosität zusammen, und zwar wächst sie mit dieser, da die Porosität dem scheinbaren spezifischen Gewicht umgekehrt proportional ist, so ist dieses auch der Adsorptionsgeschwindigkeit umgekehrt proportional. Für praktische Zwecke, also als Gasfilter, darf das scheinbare spezifische Gewicht im allgemeinen nicht über 0,7

hinausgehen, soll die Adsorptionsgeschwindigkeit noch genügend groß sein. Bei gleicher Porosität der Kohle hängt die Adsorptionsgeschwindigkeit ab von der wahren bzw. scheinbaren Aktivität.

Im Gegensatz zur gewöhnlichen groben Porosität macht sich die Ultraporosität in der Weise geltend, daß die für kleine Moleküle, von dem Prozentgehalt an reinem Kohlenstoff abhängige Reihenfolge des Adsorptionsvermögens der Kohlen bei Prüfung mit größeren Molekülen verschoben erscheint. Die größeren Moleküle gelangen bei manchen Kohlensorten nicht an alle Teile der inneren Oberfläche, die aktive Oberfläche ist scheinbar verkleinert, die Kohle hat also eine kleinere „scheinbare" Aktivität (*B*). Die scheinbare Größe der „wirksamen Oberfläche" hängt also auch von der Molekülgröße des Adsorptives ab. In praxi stellt sich also die Sache z. B. folgendermaßen dar:

Eine bestimmte Kohlensorte hat gegen kleinmolekulare Gase, z. B. Kohlensäure, geprüft eine „wahre" Aktivität *A*. — Prüft man nun dieselbe Kohle gegen ein größermolekulares Gas, z. B. SO_2, so zeigt sie gewöhnlich nicht mehr die Aktivität *A*, sondern eine kleinere „scheinbare" Aktivität *B*.

Diesen Leistungsabfall $A-B$ bezeichne ich als Ultraporositätsabfall (*U*).

Denn man kann diesen Fall kaum anders denken, als daß gegen das größere Molekül, z. B. SO_2, geprüft ein Teil der wirksamen Molekularoberfläche nicht zur Wirkung kommt; wir haben hier also wohl den charakteristischen Fall einer Ultrafilterwirkung vorliegen. Die größeren Moleküle können nicht an alle die Teile der inneren Oberfläche gelangen, die für die kleineren Moleküle noch zugänglich ist. Auf Grund einer Berechnung nehme ich an, daß für die Adsorptionsleistung lediglich das Molekül oder gewisse Molekülgruppen oder, was dasselbe ist, die Molekularoberfläche oder die Oberfläche der Molekülgruppen in Frage kommt. Die Kräfte, die bei der Adsorption auftreten, müssen daher sowohl von der Natur des Adsorbens als auch von der Natur des Adsorptives abhängen.

Auf Grund des obigen Versuches ist man also veranlaßt, zwischen einer wahren Aktivität, gemessen mit kleinmolekularen Gasen, wie Kohlensäure, Stickstoff oder Wasserstoff, und einer scheinbaren Aktivität der Kohlen zu unterscheiden.

Die wahre Aktivität ist für jede Kohlensorte eine ganz bestimmte Konstante, die angibt, wieviel Prozent aktive Molekularoberfläche oder wieviel Prozent aktiver Kohlenstoff vorhanden ist.

Die scheinbare Aktivität ist abhängig von dem Adsorptivmolekül, und zwar von der Größe des Adsorptivmoleküls. Die Ultrafiltrationsdepression ist im allgemeinen um so größer, je größer das Adsorptivmolekül ist. Die scheinbare Aktivität ist also um so kleiner, je größer das Adsorptivmolekül ist.

Je kleiner die Ultrafiltrationsdepression ist, desto kleiner ist der Unterschied zwischen der wahren Aktivität und der scheinbaren Aktivität. Wird die Ultrafilterwirkung gleich Null, so ist die scheinbare Aktivität gleich der wahren Aktivität, d. h. es kommt auch bei dem größeren Adsorptivmolekül die ganze „aktive Oberfläche" zur Wirkung.

Der Faktor, der die Ultrafilterwirkung bedingt, steht mit der gewöhnlichen Porosität nicht in Beziehung. Er liegt also jenseits der gewöhnlichen Porosität, und habe ich daher den Faktor mit „Ultraporosität" bezeichnet. Je größer die Ultraporosität ist, desto kleiner ist der Ultraporositätsabfall U. Je größer die Ultraporosität ist, desto besser ist die Adsorptionsleistung der Kohle für die verschiedensten Adsorptive.

Ein Maß für die Ultraporosität kann man z. B. in der Weise gewinnen, indem man einmal die wahre Aktivität an Kohlensäure und alsdann in ähnlicher Weise die scheinbare Aktivität gegen SO_2, das praktisch gut zugängig ist, bestimmt: indem man, genau wie ich es für Kohlensäure gemacht habe, eine Tabelle für die Leistungsfähigkeit der verschiedenen Kohlensorten für SO_2 aufstellt. Die Wahl von CO_2 und SO_2 ist natürlich ganz willkürlich, man könnte ebensogut ein anderes, größer oder kleiner molekulares Gas nehmen. Ebenso wäre noch zu untersuchen, ob nicht schon das Molekül der CO_2 etwas zu groß ist, und ob man eigentlich ein Gas mit noch kleineren Molekülen nehmen sollte, z. B. Stickstoff oder Wasserstoff.

Bezeichnen wir z. B. 1. die wahre Aktivität gegen CO_2 gemessen $= A\%$; 2. die scheinbare Aktivität gegen SO_2 gemessen $= B\%$; so ist der prozentuale Ultraporositätsabfall

$$U = \frac{(A-B) \cdot 100\%}{B}.$$

Der Ultraporositätsabfall *U* gibt also z. B. an, wieviel Prozent der gegen CO_2 aktiven Molekularoberfläche bei Prüfung gegen SO_2 nicht zur Wirkung kommen.

Dieser Ultraporositätsabfall ist eine charakteristische Konstante jeder Kohlensorte, die besonders wichtig ist, denn sie entscheidet über die Brauchbarkeit der Kohle für verschiedene Zwecke: Denn der Ultraporositätsabfall bedingt außer der adsorbierten Menge auch mit die Adsorptionsgeschwindigkeit für verschiedene Adsorptive.

Meine Versuche ergeben unter anderem auch, daß wir z. B. von der adsorbierten Menge und Geschwindigkeit für Kohlensäure nicht so ohne weiteres schließen dürfen auf die adsorbierte Menge und Geschwindigkeit für andere Adsorptive. Wir müssen da erst den Ultraporositätsabfall bestimmen, und erst dann können wir etwas sagen.

Unter Ultraporositätsabfall versteht man also die Erscheinung, daß eine Kohle, die gegen kleine Moleküle eine gute Leistung aufweist, gegenüber größeren Molekülen in der Leistung relativ zurückbleibt!

Aus den ganzen Versuchen geht hervor, daß für die Ultraporosität der Aufbau und die Lagerung der einzelnen Kohlenstoffmoleküle zueinander wesentlich ist.

IV.

Man nahm bisher an, daß unterhalb von 1200° C der Kohlenstoff nur in einem amorphen Zustand vorliegt, und daß bei Temperaturen über 1200° die amorphe Form in eine graphitartige übergeht[1]).

Was nun die Frage der „Graphitierung" bei über 1200° C anbetrifft, so war es technisch wichtig, einmal festzustellen, ob wirklich ein ausgesprochener Umwandlungspunkt, d. h. eine Modifikationsänderung vorliegt oder nicht.

Zu diesem Zwecke wurde nach einer speziell dafür ausgearbeiteten Methode die Leitfähigkeit (in Milliampere) von Holzkohlenkörnern, die auf verschiedene Temperaturen erhitzt worden waren, gemessen.

---

[1]) Gmelin Kraut I, 3, S. 482, 521ff.

In der beiliegenden Tabelle ist das Ergebnis der Versuche zusammengestellt.

Tabelle III.

Nr.	Herstellungs-temperatur ° C	Leitfähigkeit Milliampere	Erhitzungs-dauer
1	700	0,004	
2	700—800	0,080	
3	700—800	0,160	
4	900	1,30	10 Stunden
5	900	1,60	
6	1000	3,50	
7	1100	19,00	
8	1100	35,00	
9	1150	67,00	
10	1200	210	1 Stunde
11	1200	230	2 Stunden
12	1200	250	3—4 „
13	1300	270	4 „
14	1300	310	10 „
15	1400	340	8 „

Zur halbquantitativen Messung genügt eine einfache Versuchsanordnung: Ein bestimmtes Volumen (90 bzw. 100 ccm) Kohlenkörner (*K*) wird in ein aufrechtstehendes Widerstandsgefäß gefüllt, dieses besteht im wesentlichen aus einem Glaszylinder (*a*) von ca. 35 mm innerem Durchmesser und ca. 22 cm Länge. Der Glaszylinder ist in einem runden Holzklotz (*h*) befestigt und unten durch einen kreisrunden Messingstempel (*m*), der als Elektrode dient, abgeschlossen. Der Messingstempel ist zentral in dem Holzklotz befestigt. Als zweite Elektrode dient ein beweglicher, kreisrunder, mit einem Griff versehener Messingstempel (*n*) von ca. 10 qcm Grundfläche, der mit Blei beschwert ist und der ca. 1000 g wiegt. Dieser Messingstempel ist an einer mechanisch auslösbaren Fallvorrichtung zentral über der anderen Elektrode aufgehängt.

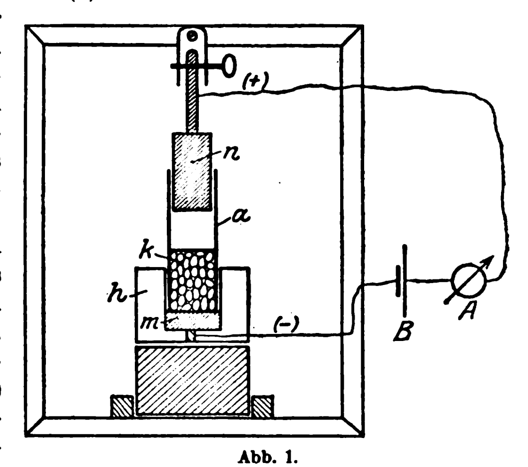


Abb. 1.

Der Stempel wurde bei den Versuchen aus bestimmter Höhe — ca. 3 cm — herabfallen gelassen. Hierdurch wurde das Prüfgut gleichmäßig gelagert und ein bestimmter möglichst konstanter Druck von ca. 100 g/1 qcm auf das Prüfgut (*k*) ausgeübt. Es ergaben sich auf diesem Wege sehr gut reproduzierbare, konstante Meßergebnisse.

Zur Messung der Leitfähigkeit wird der Strom eines Akkumulatoren (*B*) durch das Widerstandsgefäß geleitet und die Stromstärke an einem in den Stromkreis eingeschalteten Milliamperemeter (*A*) abgelesen.

In der beifolgenden Skizze ist der Apparat und das Schaltungsschema dargestellt.

Aus der Tabelle geht klar und deutlich hervor, daß wir es mit einem deutlich ausgesprochenen Umwandlungspunkt zu tun haben, der etwa bei 1150° liegt.

Der Anstieg der Leitfähigkeit erfolgt ziemlich plötzlich, er hängt etwas von der Erhitzungsdauer ab, und zwar nimmt die Leitfähigkeit noch etwas zu, je länger erhitzt wird, dann bleibt sie annähernd konstant und selbst bei stärkstem Glühen bei 14—1500° konnte ich keine wesentliche Erhöhung der Leitfähigkeit mehr erzielen.

Die erhöhte Leitfähigkeit bei über 1100° erkläre ich mir dadurch, daß sich bei dieser Temperatur die Kohlenstoffmoleküle zu größeren Komplexen umlagern, worauf ja auch das größere spezifische Gewicht hindeutet. Das Material sintert beim Glühen bei 1400° sehr zusammen, so ergeben z. B. 435 ccm Kohle nur 303 ccm Glühprodukt. Daß die Umlagerung erst bei ca. 1150° plötzlich eintritt, ist mir auch erklärlich, denn es ist ja bekannt, daß bei 1100—1200° der Kohlenstoff bereits einen merklichen Dampfdruck aufweist.

Ich habe also mit Hilfe der Leitfähigkeitskurve indirekt einen Anhalt für den Verlauf der Dampfdruckkurve des Kohlenstoffes, und zwar ist der Dampfdruck unterhalb und bis 1100° sehr klein und erst bei über 1100° C schnellt er plötzlich in die Höhe.

Welchen Einfluß übt nun die Graphitierung auf die Beschaffenheit und Leistungsfähigkeit der Kohle aus?

Es zeigte sich da, daß die Adsorptionsleistung durch Glühen bei unterhalb 1150° gesteigert wird, daß aber sobald stärker erhitzt wird, und eine weitgehende „Graphitierung" auftritt, die Adsorptionsleistung zurückgeht.

Auch konnte ich im allgemeinen die Beobachtung machen, daß alle guten Adsorptionskohlen eine verhältnismäßig niedrige Leitfähigkeit zeigten.

Im Gegensatz dazu konnte ich feststellen, daß die graphitierten Kohlen, also die Kohlen mit sehr großer Leitfähigkeit,

im allgemeinen eine schlechtere Adsorptionsleistung zeigten; außerdem zeigten die graphitierten Kohlen den Ultraporositätsabfall besonders ausgeprägt.

Bei der Graphitierung wird das Material gleichzeitig härter, auch wird das wahre spezifische Gewicht etwas größer. Die Steigerung der Härte durch eine schwache Graphitierung oder durch Erhitzen auf Temperaturen, die nahe dem Umwandlungspunkte liegen, könnte vielleicht für manche Zwecke von Vorteil sein.

Es ergibt sich also, daß die Graphitierung im allgemeinen schädlich ist.

Wir haben nun zur Erklärung dieser Tatsache 2 Möglichkeiten: entweder kommt der Graphitmodifikation des Kohlenstoffes eine spezifisch kleinere Adsorptionsleistung zu, oder wir müssen die niedrigere Leistung als Ultra-Filtrationswirkung auffassen, die durch die Bildung der Graphitmodifikation hervorgerufen wird.

Es wäre interessant, die Frage zu untersuchen, ob die nicht graphitierte Modifikation und die Graphitmodifikation des Kohlenstoffes eine einheitliche Zusammensetzung aufweisen, oder ob sie sich nicht etwa noch aus verschiedenen Modifikationen zusammensetzen?

Nach Debye[1]) soll ja die amorphe Kohle Graphit sein, in feiner Verteilung, wie dieselbe durch mechanische Mittel niemals erreicht werden kann. Debye zieht diesen Schluß aus Röntgenaufnahmen, die er mit verschiedenen Kohlen als „Gitter" erhält, und zwar schließt er das daraus, weil die Beugungsmaxima annähernd an derselben Stelle liegen.

V.

Bisher wurde die Frage offengelassen, ob die Adsorptionskraft dem Atom, dem Molekül oder Molekülgruppen zukommt oder lediglich von der „Oberflächenausbildung" abhängt?

Die Feststellung der quantitativen Gewichtsbeziehungen zwischen dem Adsorbens und Adsorptiv war bisher auch nicht möglich, da man eben im allgemeinen bisher nicht feststellen konnte, wieviel Adsorbens jeweils in Aktion getreten war.

Nachdem es mir nun durch die vorliegende Untersuchung gelungen ist, jederzeit den Gehalt an „aktivem" Kohlenstoff

[1]) P. Debye und P. Scherrer, Physik. Zeitschr. 18, 291. 1917.

z. B. durch eine einfache Bestimmung der Adsorptionsisotherme für Kohlensäure zu ermitteln, war es auch möglich, der obigen Frage nachzugehen.

Es wurde z. B. folgende Versuchsanordnung getroffen:

Gereinigter und getrockneter Stickstoff wurde in langsamem Strom durch die als Adsorptiv dienende Flüssigkeit geblasen, die sich in einer Art Kaliapparat befand, so daß sich der Stickstoffstrom bei der betreffenden Temperatur mit dem Adsorptiv sättigte. Der mit Adsorptiv gesättigte Stickstoffstrom wurde nun durch die Adsorbenskohle, die sich in einem kleinen U-förmigen, mit 2 Glasschliffen versehenen Glasrohr befand, geleitet.

Bei den folgenden Versuchen wurde je 1 g Kohle angewandt. Die Temperatur betrug ca. 25° C.

Die Kohle wurde in dem U-Rohr abgewogen und dann der mit dem Adsorptiv gesättigte Stickstoffstrom so lange hindurchgeblasen, bis Gewichtskonstanz eingetreten war.

Als Adsorbens wurde z. B. eine Leverkusenkohle angewandt, deren Aktivität zu 55,5% bestimmt worden war. Als Adsorptiv wurden unter anderem angewandt:

1. Chlorpikrin; 2. Benzylchlorid; 3. Phosphortribromid.

Die Versuche sind in nachfolgender Tabelle zusammengestellt:

Tabelle IV.

Nr.	Formel	Sp. 760 mm °	Molgewicht g	Von 1 g Leverkusenkohle adsorbierte Menge in g
1	Chlorpikrin CCl_3NO_2	112	164,4	1,260
2	Benzylchlorid $C_6H_5ClCH_2$	179	126,5	0,950
3	Phosphortribromid PBr_3	175,3	270,9	2,129

1 g 100proz. aktiver Kohlenstoff würde also adsorbieren:

1. Chlorpikrin	55,5% = 1,260 g
	44,5% = 1,012 „
	100,0% = 2,272 g
2. Benzylchlorid	55,5% = 0,950 g
	44,5% = 0,760 „
	100,0% = 1,710 g
3. Phosphortribromid	55,5% = 2,129 g
	44,5% = 1,710 „
	100,0% = 3,839 g

In der Annahme, daß auf 6 Kohlenstoffmoleküle 1 Adsorptivmolekül kommt, würde 1 g „aktiver" Kohlenstoff anlagern:

1. Chlorpikrin . . . . 2,28 g
2. Benzylchlorid . . . . 1,76 „
3. Phosphortribromid . . . . . 3,78 „

Die obigen gemessenen Adsorptionswerte stimmen also mit den theoretisch angenommenen gut überein.

Durch diese Versuche ist also der Beweis erbracht, daß wir es bei der Adsorption obiger Stoffe mit einer Art lockerer chemischer Bindung zu tun haben müssen, und zwar scheint die Anlagerung in obigen Fällen an einen Kohlenstoffsechserring zu erfolgen.

Die Adsorptionskonstante K gibt an, wieviel 1 g „aktiver" Kohlenstoff maximal adsorbiert. Die Adsorptionskonstante K des aktiven Kohlenstoffes würde also sein:

für Chlorpikrin . . . . $K = 2{,}272$ g
für Benzylchlorid . . . . $K = 1{,}710$ „
für Phosphortribromid. . . . . $K = 3{,}838$ „

Die Adsorptionskonstante wäre also für die Anlagerung an den Sechserringkohlenstoff $K = \frac{M}{C_6}$, wobei M das Molekulargewicht des Adsorptives ist. Es ist nun nach den Eigenschaften des Kohlenstoffes möglich oder sogar zu erwarten, daß in anderen Fällen die Anlagerung nicht an den C_6-Ring, sondern in anderer Weise erfolgen kann. Damit wäre also das erstemal das Bestehen von labilen „Adsorptionsverbindungen" nachgewiesen, die man auf gewöhnlichem chemischen Wege nicht isolieren kann, die aber nach meiner Anschauung die Vorstufe für die gewöhnlichen chemischen Verbindungen bilden. Das Wesentliche ist also, daß bestimmte Beziehungen zwischen Adsorbens und Adsorptiv bestehen, die abhängig sind von der chemischen Natur des Adsorbens und des Adsorptives.

Welche quantitativen Verhältnisse in „Lösung" bestehen und wie die Anlagerung erfolgt, ob auch an den C_6-Ring, wie z. B. bei Dämpfen festgestellt wurde, bleibt dahingestellt. Jedenfalls liegen die Verhältnisse nicht so einfach wie bei Gasen oder Dämpfen, denn in Lösung haben wir gewissermaßen 2 Adsorptive, das Lösungsmittel und die gelöste Substanz. Jedem der beiden Faktoren, dem Lösungsmittel sowie der gelösten Substanz kommt, wenn sie mit dem Kohlenstoff allein reagiert, eine bestimmte Adsorptionskonstante (K_1, K_2) zu. Das Lösungsmittel beein-

flußt nun die Adsorption der gelösten Substanz, und zwar konnte ich die Beobachtung machen, daß der Einfluß des Lösungsmittels um so größer wird, je größer die Adsorptionskonstante des Lösungsmittels allein ist. Das Lösungsmittel macht sich wahrscheinlich in der Weise geltend, daß die Adsorption der gelösten Substanz um so größer ist, je größer die Adsorptionskonstante des Lösungsmittels ist. Andererseits hängt aber die adsorbierte Menge ab von der Löslichkeit der gelösten Substanz im Lösungsmittel, und zwar konnte ich die Beobachtung machen, daß, je größer die Löslichkeit der gelösten Substanz im Lösungsmittel ist, desto weniger wird adsorbiert!

Die weitere Verfolgung dieser Fragen wird sicher interessante Aufschlüsse geben.

Ob für die Größe der Adsorptionskonstanten lediglich das Molekulargewicht maßgebend ist oder ob auch noch andere physikalische und chemische Eigenschaften einen Einfluß haben, wie z. B. der Siedepunkt usw., muß noch genauer untersucht werden. Jedenfalls scheint aber nach meinen Beobachtungen folgendes sicher zu sein:

1. Das Verhältnis der jeweils zur Wirkung gelangenden Menge des Adsorbens zum Adsorptiv ist ein konstantes.

2. Für chemisch ähnliche Körper, homologe Reihen usw. ändert sich die Adsorptionskonstante in gesetzmäßiger Weise, und zwar wächst die Adsorptionskonstante mit zunehmender Molekülgröße des Adsorptives. Zu berücksichtigen ist dabei die Erscheinung des Ultraporositätsabfalls, der die Gesetzmäßigkeit verdeckt! Die in praxi gefundene Reihenfolge der Adsorbierbarkeit für verschiedene Adsorptive durch das Adsorbens „Kohle" kann eine verschiedene sein, je nachdem wie groß die Aktivität und der Ultraporositätsabfall der betreffenden Kohlensorte ist! Man kann überhaupt im allgemeinen sagen, daß die Adsorbierbarkeit der verschiedenen Adsorptive weitgehend abhängig ist von der chemischen Natur des Adsorbens, sowie von seinem räumlichen Aufbau.

3. In der Adsorptionsisotherme $a = \beta \cdot c^{\frac{1}{n}}$ ist die Größe von $\left(\frac{1}{n}\right)$ keine Konstante, sondern sie ist einmal abhängig von der Beschaffenheit des Adsorbens, vom Ultraporositätsabfall und zweitens von der Beschaffenheit des Adsorptives, von der Molekulargröße.

VI.

Für die Beurteilung der Adsorptionsleistung einer Kohle waren bisher im wesentlichen 2 Faktoren maßgebend.

Erstens die adsorbierte Menge, zweitens die Adsorptionsgeschwindigkeit.

Es hat sich nun gezeigt, daß eine Kohle durch diese beiden Faktoren noch nicht hinreichend gekennzeichnet ist.

Und zwar sind für jede Adsorptionskohle noch folgende Eigenschaften wichtig und charakteristisch:

1. die Reinheit des Kohlenmaterials und dadurch bedingt die „wahre“ Aktivität;
2. die gewöhnliche Porosität der Kohle, die vor allen Dingen die Adsorptionsgeschwindigkeit bedingt;
3. der Ultraporositätsabfall, durch den die „scheinbare“ Aktivität bedingt ist und damit die Abhängigkeit der Adsorptionsleistung von der Größe des Adsorptivmoleküles;
4. die Graphitierung.

Es kommt also bei der Adsorption im wesentlichen auf die chemische und physikalische Beschaffenheit des Kohlenmaterials an.

Die Erscheinung der Adsorption durch Kohlenstoff ist damit im wesentlichen geklärt und es bleibt nur noch übrig, nach den angedeuteten Gesichtspunkten mehr Versuchsmaterial zu sammeln. Es empfiehlt sich da vor allem, die systematische Feststellung der Adsorptionskonstanten von Gas oder Dampf für chemisch homologe Reihen unter Berücksichtigung der Ultraporosität und die weitere Festlegung der Adsorption aus Lösung; die Bestimmung der Adsorptionskonstanten für Lösungsmittel und gelöste Substanz, ihr gegenseitiger Einfluß, insbesondere Berücksichtigung der Löslichkeit. Die Adsorptionskonstante kann man natürlich auch statisch bestimmen, indem man die Luftgase aus der Kohle durch Evakuieren entfernt und dann nur den Dampf des im Überschuß vorhandenen Adsorptives adsorbieren läßt, so daß sich die Kohle wirklich absättigt.

Die Grundbedingung für die Fabrikation aber ist die Herstellung eines reinen Kohlenstoffproduktes mit guter Ultraporosität.

Über die Verteilung des zum Blute hinzugefügten Wassers zwischen Blutkörperchen und Serum.

Von

Takeo Takei.

(Aus dem Physiologischen Institut der Universität Groningen.)

(Eingegangen am 27. Dezember 1920.)

Einleitung.

Seit den Untersuchungen von Hamburger, Hedin u. a.[1]) ist es genügend bekannt, daß die roten Blutkörperchen, falls man sie mit einer hypotonischen Flüssigkeit mischt (Blutserum verdünnt mit Wasser oder hypotonischer Salzlösung), an Volumen zunehmen. Es wurden jedoch diese Untersuchungen alle in der Weise vorgenommen, daß die Blutkörperchenmenge im Vergleich mit dem Volumen der Zusatzflüssigkeit sehr gering war, und daß durch die Wasseraufnahme der Blutkörperchen die osmotische Konzentration der Zusatzflüssigkeit sich vermutlich nicht änderte.

Anders gestaltet sich jedoch die Frage, wenn man das Blut selbst mit einer gewissen Menge Wasser verdünnt, wie es im lebenden Körper nach größerer oder geringerer Wasseraufnahme nach Angabe der Mehrzahl der Autoren zeitlich der Fall sein kann. Dieses Wasser wird sich in gewissem Verhältnisse über Serum und Körperchen verteilen, und es wäre für verschiedene physiologische Fragen wünschenswert zu wissen, in welcher Weise diese Verteilung stattfindet. Stehen ja mit dieser Frage mehrere Probleme in direktem Zusammenhang, z. B. inwieweit das Serumeiweiß die Aufnahmefähigkeit des Serums für Wasser beeinflussen kann, und ob dieselbe durch gewisse Faktoren (H-Ionen usw.) erheblich beeinflußt wird. Es würde dies für das Verständnis der diuretischen Wirkung der Wasserzufuhr auf die Nieren von

---

[1]) Siehe Hamburger, „Osmot. Druck u. Ionenlehre“ I, S. 183.

Bedeutung sein (man denke an die Rolle, welche dabei nach Starling die Eiweißkonzentration spielen soll) sowie auch für die in letzter Zeit von Eppinger[1]) aufgeworfene Frage, inwieweit die Eiweißkörper des Blutes durch Wasserbindung Ödem hervorrufen können.

In dieser Richtung sind bis jetzt nicht viele Untersuchungen angestellt. Bechhold[2]) drückte sich in der Weise aus, daß „Untersuchungen über den Wassergehalt der Blutelemente an einem und demselben Tier bei Wasserentziehung und Wasseraufnahme sehr erwünscht wären".

Über die Veränderungen im Blute in vivo nach Wasseraufnahme, sind verschiedene Untersuchungen publiziert. Die betreffenden Autoren haben sich aber meistens damit zufriedengegeben, den Grad der Verdünnung des gesamten Blutes oder des Serums zu kontrollieren. H. C. Ward[3]) hat z. B. den Hämoglobingehalt vor und nach dem Wassertrinken bestimmt und aus seinen Resultaten auf Änderungen in der ganzen Blutmenge geschlossen. Andere Untersucher wie Strauss[4]), Engel und Scharl[5]), haben die Änderungen in der Refraktion des Serums als Maß der Verdünnung angenommen. Aus den letzten Jahren liegen Untersuchungen von Veil[6]) und Blix[7]) vor, über den Wassergehalt des Blutes vor und nach Wasseraufnahme. Es ist einleuchtend, daß, solange noch keine vergleichende Untersuchungen über die Veränderungen in den zwei Hauptbestandteilen des Blutes — Serum und Körperchen — nach Wasseraufnahme oder Wasserzusatz in vitro vorliegen, von einer befriedigenden Lösung des Problems nicht gesprochen werden kann. Zwar hat Abderhalden[8]) vor etlichen Jahren die Grenzen für den Wassergehalt der Blutbestandteile bei verschiedenen Tieren bestimmt, und Bechhold[9]) schließt daraus auf einen Unterschied im Quellungsvermögen zwischen Blutkörperchen, Fibrin und Serum. Seit der Veröffentlichung Abderhaldens sind aber unsere Methoden sehr verbessert worden und können wir auch die Veränderungen durch Hinzufügung von nur wenig Wasser besser verfolgen.

Auf Anregung und unter der Leitung des Herrn Prof. H. J. Hamburger ging ich daran, mich mit der Untersuchung dieser

[1]) Eppinger, Zur Pathologie u. Therapie des menschl. Ödems. Berlin, Julius Springer 1917.

[2]) Bechhold, Die Kolloide in Biologie und Medizin. II. Aufl. 1920, S. 238.

[3]) Ward, Amer. journ. of physiol. **11**, 394. 1904.

[4]) Strauss, Zeitschr. f. klin. Med. **60**, 225. 1905.

[5]) Strauss, Engel u. Scharl, Ibid. **60**, 500. 1906.

[6]) Veil, Deutsch. Archiv f. klin. Med. **119**, 376. 1916.

[7]) Blix, diese Zeitschr. **74**, 302. 1916.

[8]) Abderhalden, Zeitschr. f. physiol. Chemie **23**, 521. 1897.

[9]) L. c.

Frage zu beschäftigen. Selbstverständlich werden hierbei Experimente in vivo entscheidend sein; diese werden jedoch von sehr vielen komplizierenden Faktoren beeinflußt (Nieren- und Gewebsarbeit), deren gesonderte Wirkungen nur sehr schwierig festgestellt werden können. Wir haben uns deshalb vorläufig damit begnügt, nur in vitro zu arbeiten, wobei das Problem sich einfacher gestaltet und man eine Änderung der Faktoren abgestuft bewirken kann.

Vorläufig haben wir nun das Problem möglichst vereinfacht, und zwar nur die Frage gestellt, in welcher Weise außerhalb des Körpers die beiden Bestandteile eines defibrinierten Blutes auf Hinzufügen einer bestimmten Menge Wasser reagieren. Wir haben in der vorliegenden Arbeit noch davon abgesehen zu untersuchen, inwieweit hierbei Zustandsänderungen des Serumeiweißes in Betracht kommen und ob überhaupt das Serumeiweiß die Wasserverteilung beeinflußt; die Beantwortung dieser Fragen könnte durch die Untersuchung gleicher Verdünnungen von Blutkörperchen in Serum- und Kochsalzlösung geschehen.

Methodik.

Das relative Volumen von Serum und Körperchen vor und nach der Verdünnung läßt sich in verschiedener Weise untersuchen:

1. durch Bestimmung des Trockenrestes des Serums und der Blutkörperchen;

2. durch die Hämatokritmethode;

3. mittels der Bestimmung der Refraktion des Serums.

Wir haben uns auf die letzten zwei Methoden beschränkt und dadurch zugleich einen Vergleich erhalten über den relativen Wert beider Methoden.

I. Hämatokritmethode.

Es wird ein wenig Blut (vom Kaninchen, Rind oder Menschen) genommen, in geschlossener Flasche oder Röhre defibriniert und darauf durch Filtrierpapier filtriert. Es werden genau 0,08 ccm abgemessen und in Chono-Hämatokriten zentrifugiert.

Natürlich wurde das Zentrifugieren so lange fortgesetzt, bis das Volumen der Blutkörperchen konstant geworden war. In dieser Weise erhält man das relative Volumen von Blutkörperchen

und Serum im normalen Blute. Zu einer anderen Probe desselben Blutes wurde, nachdem das Serum von den Blutkörperchen durch Zentrifugieren abgetrennt worden war, destilliertes Wasser in bestimmten Prozenten vom totalen Blutvolumen hinzugefügt; man vermischt dasselbe alsdann mit den zurückgebliebenen Körperchen, so daß man jetzt ein mit einer bestimmten Menge Wasser verdünntes Blut bekommt. Bis zu einer gewissen Verdünnung kann man in dieser Weise örtliche Hämolyse vermeiden.

Von diesem Blute wird auch das relative Volumen von Körperchen und Serum bestimmt. Dadurch wird bekannt, wie das zugefügte Wasser sich auf Körperchen und Serum verteilt hat. Genau angegeben, wurde also in folgender Weise vorgegangen.

Wie oben erwähnt, wurde von frischem defibrinierten Kaninchenblute in Röhrchen je 1,0 ccm abgemessen, dann zentrifugiert und zunächst von 5—75 Volumen destilliertes Wasser zu 100 Volumen des Blutes hinzugefügt, davon wiederum 0,08 ccm in Hämatokriten zentrifugiert.

Der einfachen Rechnung wegen, habe ich die Verdünnung auf das unverdünnte Blut genommen, also 5%, 10% usw., und in derselben Weise auch die Volumenänderung von Serum und Körperchen im Prozentsatz des ursprünglichen Volumens ausgedrückt.

Um die nach Verdünnung gefundenen Volumina der Blutkörperchen mit dem ursprünglichen unverdünnten, welches man als Kontrolle bestimmen muß, vergleichen zu können, müssen erstere noch korrigiert werden, denn das Blut ist mit 5, 10 Vol. usw. destillierten Wassers von 100 Blutvolum verdünnt worden, wodurch in 0,08 ccm des verdünnten Blutes sich jetzt weniger Blutkörperchen befinden.

Das korrigierte Volumen, das ich hier mit V_0 bezeichne, ist genau zu berechnen aus folgender Formel:

$$V_0 = \frac{\text{gefundenes Volumen} \cdot (100 + \text{zugefügte Wassermenge})}{100}.$$

Bezeichnet man das ursprüngliche Volumen der Körperchen mit V, so erfahren die Körperchen von 100 Vol. Blut eine prozentuale Volumenzunahme von

$$\frac{V_0 - V}{V} \cdot 100\,\%.$$

Die Blutkörperchenvolumina sind hier aus den Mittelwerten von Doppelbestimmungen genommen, welche immer entweder gleiche oder einen Unterschied von höchstens 0,5 Teilstrich gezeigt haben.

Die folgende Tabelle enthält die Ergebnisse einiger Versuche.

Tabelle I.

Volumenmessung der Kaninchen-Blutkörperchen.

Prozente des zugefügten Wassers zum 100 Vol.-Blute	V = gefundenes Körperchenvolumen	V_0 = korrigiertes Volumen	$V_0 - V$ = Volumenunterschied	$\frac{V_0 - V}{V} \cdot 100$ = Volumenzunahme in %
Ursprüngl. Blut	67,00	—	—	—
5	66,75	70,1	3,1	4,63
10	66,00	72,6	5,6	8,35
15	64,75	74,5	7,5	11,20
Ursprüngl. Blut	63,00	—	—	—
20	60,00	72,0	9,0	14,30
25	59,25	74,●	11,0	17,46
30	58,25	75,7	12,7	20,16
40	57,50	80,5	17,5	27,78
50	56,00	84,0	21,0	33,33
Ursprüngl. Blut	67,00	—	—	—
60	57,75	92,4	25,4	37,91
70	58,00	98,6	31,6	47,16
75	ziemlich starke Hämolyse			

Aus dieser Tabelle läßt sich in einfacher Weise berechnen, wie das zugefügte Wasser sich zwischen Körperchen und Serum verteilt hat. Ich gebe hierfür folgendes Beispiel.

Die Zahlen, welche in Tabelle I die Körperchenvolumina und die Volumenunterschiede angeben, sind doppelt so groß wie die echten Prozentzahlen, weil jedesmal 0,08 ccm Blut im Hämatokriten (0,04 ccm Inhalt) abgemessen wurde; also muß man die tabellarisierten Zahlen durch 2 teilen, um das prozentuale Volumen der Körperchen zu berechnen. Nach Tabelle I beträgt die ursprüngliche Prozentzahl des Körperchenvolumens $\frac{67}{2} = 33,5\%$ des Gesamtblutes; so muß das Serumvolumen 66,5% sein; und im Falle, wo 5 Vol. Wasser zum 100 Vol.-Blute zugesetzt wurde, ist die Volumenzunahme der Körperchen 4,63% ihres ursprünglichen Volumens und $\frac{V_0 - V}{2} = \frac{3,1}{2} = 1,55\%$ des Gesamtblutes, dann ist die Volumenzunahme des Serums $5,00 - 1,55 = 3,45\%$ des Gesamtblutes und $\frac{3,45}{66,5} \cdot 100 = 5,18\%$ seines unverdünnten Volumens.

In Tabelle II ist in dieser Weise die Volumenzunahme von Serum und Körperchen bei den verschiedenen Verdünnungen angegeben.

Tabelle II.

Wasserverteilung auf Blutkörperchen und Serum.

(Umgerechnet in gleiche Volumenverhältnisse; Körperchenvolumen 33,5% und Serumvolumen 66,5%).

Prozente des zugefügten Wassers zum 100 Vol.-Blute	Wasserverteilung			
	in Proz. des Gesamtblutes		in Proz. von Körperchen- resp. Serumvolumen	
	Körperchen	Serum	Körperchen	Serum
5	1,55	3,45	4,6	5,2
10	2,80	7,20	8,4	10,8
15	3,75	11,25	11,2	16,9
20	4,78	15,22	14,3	22,9
25	5,85	19,15	17,5	28,8
30	6,75	23,25	20,1	35,0
40	9,32	30,68	27,8	46,1
50	11,15	38,85	33,3	58,4
60	12,85	47,15	37,9	71,1
70	15,80	54,20	47,2	81,5

II. Volumenmessung durch Refraktometrie.

In den folgenden Versuchen habe ich nun zu der Hämatokritmethode als Kontrolle die refraktometrische Eiweißbestimmung des Serums zugefügt. Wenn man mittels derselben die Eiweißkonzentration im Serum bestimmt, so wird man dadurch die Serumverdünnung sofort berechnen können.

Zur Messung bediente ich mich hier des Abbé-Zeißschen Refraktometers; und selbstverständlich habe ich die Brechungsindices unter den Bedingungen für Benutzung des Refraktometers (bei konstanter Temperatur von 17,5° C und dem Brechungsvermögen für destilliertes Wasser 1,33320) bestimmt, und zwar habe ich die Zahl, welche bei wiederholten Schätzungen am meisten vorgekommen war, als den bestimmten Index des betreffenden Serums notiert, und daraus nach der Reißschen Formel die Eiweißkonzentration im unverdünnten ursprünglichen Serum berechnet.

n_D = Brechungsindex

$$\text{Eiweiß } \% = \frac{\text{gefund. } n_D - (n_D \text{ für dest. Wasser } 1{,}33320 + n_D \text{ für Nichteiweißkörper } 0{,}00277)}{n_D \text{ für } 1\% \text{ Eiweiß } 0{,}00172}.$$

Aber diese Berechnungsweise ist im Falle von verdünntem Serum nicht anwendbar, weil nicht ohne weiteres angenommen

werden kann, daß bei Serumverdünnung der Brechungsindex für Nichteiweißkörper (0,00277) konstant bleibt. Um den Eiweißgehalt im verdünnten Serum zu finden, sollte man wahrscheinlich etwa die nächste Gleichung anstellen.

$$\text{Eiweiß}\ {}^0\!/\!_0 = \frac{\text{gefund. n.}^{\text{D}} - \left(\dfrac{100}{100 + \text{zugefügtes Wasservol.}} \cdot 0{,}00277 + 1{,}33320\right)}{0{,}00172}.$$

In dieser Gleichung ist die vermehrte Wassermenge im Serum eine unbekannte Zahl, und es ist unsere Aufgabe, diese Zahl zu finden. Da wir also aus den gefundenen Brechungsindices für die Sera nach Blutverdünnung, die Serumverdünnung nicht erfahren können, habe ich zuerst je 10,0 ccm Rinderblutserum in 20 Reagensgläsern abgemessen und diese mit 5,10 Vol. usw. destilliertem Wasser auf 100 Volumen Serum verdünnt. Darauf wurde jeder Brechungsindex dieser verdünnten Sera äußerst genau bestimmt. Aus dem Brechungsindex für das ursprüngliche Serum (1,3478) wird das zugehörige Eiweiß in Prozenten nach der Reißschen Formel auf 6,995% bestimmt; es müssen also die Eiweißprozente in jedem verdünnten Serum von 105, 110 usw. Volumen wie folgt sein.

$$\frac{6{,}995}{105} \cdot 100 = 6{,}66\%$$

$$\frac{6{,}995}{110} \cdot 100 = 6{,}36\% \text{ usw.}$$

In dieser Weise erhält man eine Skala, nach der man für jede Wasserverdünnung eines Serums die einem Refraktometerwert zugehörige Eiweißkonzentration und damit den Verdünnungsgrad sofort berechnen kann. Natürlich könnte man jetzt aus der soeben genannten Gleichung umgekehrt die diesen Eiweißprozenten entsprechenden Brechungsindices mathematisch berechnen, da die zum Serum zugefügte Wassermenge und die daraus berechnete Eiweißprozentzahl beide jetzt angegeben wurden.

Bei wiederholten Prüfungen wurde festgestellt, daß wirklich diese Formel für Verdünnungen gültig ist. Das Refraktometer läßt sich also für die Bestimmung der Wasserverdünnung des Serums anwenden, während bei der Bangschen Mikromethode[1])

---

[1]) **Bang**, Methoden zur Mikrobestimmung einiger Blutbestandteile. Bergmanns Verlag, Wiesbaden 1916.

für die Wassergehaltbestimmung des Blutes kleine Fehlerquellen (Aufnahme von Feuchtigkeit während der Wägung) vorkommen, wie schon früher Blix[1]) in seiner Arbeit gesagt hat, daß das Resultat um etwa 0,1% zu hoch ausfällt.

Die tabellarische Zusammenstellung der obengenannten Skala ist in Tabelle III wiedergegeben.

Tabelle III.

Zur direkten Umrechnung der Brechungsindices in Eiweißprozente.

Prozente des zugefügten Wassers zum 100 Vol.-Serum	n.D für die verdünnten Sera (aus Refraktometer)		Berechnete Eiweißprozente in verdünnten Sera	Differenz v. Eiweißprozent für Schätzungsteil	
Ursprüngl. Serum	1,3480		6,99		
5	1,3474	6	6,66	0,055	
10	1,3467	7	6,36	0,043	
15	1,3462	5	6,08	0,056	
20	1,3455	7	5,82	0,037	
25	1,3452	3	5,60	0,073	
30	1,3447	5	5,38	0,044	Mittelwert 0,46
35	1,3442	5	5,18	0,040	
40	1,3438	4	5,00	0,045	
45	1,3434	4	4,82	0,045	
50	1,3430	4	4,66	0,040	
55	1,3427	3	4,44	0,073	
60	1,3425	2	4,37	0,035	
65	1,3422	3	4,24	0,043	
70	1,3419	3	4,11	0,043	
75	1,3417	2	4,00	0,055	Mittelwert 0,49
80	1,3414	3	3,88	0,040	
85	1,3412	2	3,78	0,050	
90	1,3410	2	3,68	0,050	
95	1,3407	3	3,58	0,033	
100	1,3405	2	3,50	0,040	

Wir sehen, daß einer bestimmten Verringerung der Eiweißprozente nicht eine konstante Verringerung der Refraktion entspricht; dies kommt jedoch daher, daß das vierte Dezimal der Refraktion nur geschätzt wird. Bei größeren Differenzen stimmen die Ziffern genau. Mißt man mittels des Refraktometers den

[1]) l. c.

Brechungsindex eines unbekannten verdünnten Serums, so wird man aus dieser Tabelle die entsprechende Eiweißprozentzahl sofort auffinden können. Man würde dennoch sagen können, daß man nicht von vornherein das Recht hat, aus dieser Tabelle die Eiweißprozente, also die Verdünnungen eines jeden willkürlichen Serums, nachzuschlagen, weil es möglich (wenn auch nicht wahrscheinlich) wäre, daß Sera mit einer anderen Anfangsrefraktion als der in der Tabelle erwähnten, also mit einer anderen Eiweißprozentzahl, bei den verschiedenen Verdünnungen nicht die mit dem berechneten Eiweißprozente übereinstimmende Refraktion der Tabelle zeigen würden, sondern eine andere. Daß dies hier jedoch nicht in Betracht gezogen zu werden braucht, erhellt aus den Zahlen der nächsten Tabelle IV, wo ich in genau derselben Weise die Brechungsindices von Kaninchen- und Schweineserum mit anderen Anfangsrefraktionen bei verschiedenen Verdünnungen bestimmt und zugleich den Eiweißgehalt aus diesen Verdünnungen berechnet habe; man sieht, daß in allen 3 Fällen dieselbe Brechung einem nahezu gleich großen Eiweißgehalt entspricht. Wir können

Tabelle IV.

Refraktometrische Eiweißbestimmung in Kaninchen- und Schweineserum.

Prozente des zugefügten Wassers zum 100 Volumen-Serum	Brechungsindices	Berechnete Eiweißprozente in verdünnten Sera	Eiweißprozente (aus Tabelle III)	Differenz
		Kaninchenserum.		
Ursprüngl. Serum	1,3470	6,41	—	—
6	1,3462	6,05	6,08	−0,03
13	1,3452	5,67	5,67	0
23	1,3444	5,21	5,26	−0,05
33	1,3435	4,82	4,87	−0,05
43	1,3428	4,48	4,51	−0,03
53	1,3422	4,19	4,24	−0,05
63	1,3416	3,93	4,96	−0,03
		Schweineserum.		
Ursprüngl. Serum	1,3475	6,70	—	—
8	1,3464	6,20	6,19	+0,01
17	1,3454	5,73	5,75	−0,02
27	1,3445	5,28	5,30	−0,02
37	1,3435	4,89	4,87	+0,02
47	1,3429	4,56	4,59	−0,03
57	1,3423	4,27	4,28	−0,01
67	1,3417	4,01	4,00	+0,01
77	1,3412	3,79	3,78	+0,01
87	1,3408	3,58	3,61	−0,03

also, bei den ziemlich winzigen Variationen der Anfangsrefraktion des Serums, ohne nennenswerten Fehler, nach der Blutverdünnung den Eiweißgehalt des Serums, und also die resultierende Serumverdünnung aus der von mir aufgestellten Tabelle nachsehen.

Falls der Skalenunterschied zwischen den Anfangsrefraktionen größer wäre, so würde man natürlich auch vorher von jedem Serum die zugehörige Verdünnungstabelle feststellen können und dann die Refraktion des Serums nach Blutverdünnung damit vergleichen.

Ich habe nun für Kaninchen, Rinder und Menschenblut die volumetrische Untersuchung der Blutkörperchen und die refraktometrische Eiweißbestimmung im Serum gleichzeitig ausgearbeitet. Wo bei beiden Methoden kleine Fehler nicht ausgeschlossen werden können (ungenaue Abmessung bei der Hämatokritmethode, ungenaue Schätzung der Refraktion usw.), habe ich mehrere Versuche gemacht (4 mit Rinder-, 6 mit Kaninchen-, 3 mit Menschenblut).

Aus den 6 folgenden Tabellen sieht man, daß dennoch die Übereinstimmung zwischen beiden Methoden überaus groß ist. Um die vermehrte Wassermenge im Serum zu finden, benutze ich folgende Berechnungsweise.

$$\text{I. } 100 \cdot \frac{\text{Eiweißgehalt im urspr. Serum}}{\text{gefund. Eiweißgehalt}} - 100 = \text{Volumenzunahme des Serums (\%)}.$$

II. 1 · urspr. Serumvolumen = Volumenzunahme des Serums auf 100 Blutvolumen.

Tabelle V.

Volumenmessung der Kaninchen-Blutkörperchen und die daraus berechnete Wasserverteilung.

(Körperchenvolumen 33,5%, Serumvolumen 66,5%).

Prozente des zugefügten Wassers zum 100 Vol.-Blute	Gefund. Körperchenvolumen	Korrigierte Volumen	Volumenunterschied	Wasserverteilung: in Prozenten des Gesamtblutes		Wasserverteilung: in Proz. v. Körperchen- resp. Serumvolumen	
				Körperchen	Serum	Körperchen	Serum
Ursprüngl. Blut	67,00	—	—	—	—	—	—
5	67,00	70,35	3,35	1,68	3,32	5,0	5,0
10	66,00	72,60	5,60	2,80	7,20	8,4	10,8
20	63,80	76,56	9,56	4,78	15,22	14,3	22,9
30	61,50	79,95	12,95	6,48	23,52	19,3	35,4
40	61,00	85,40	18,40	9,20	30,80	27,5	46,3
50	59,00	88,50	21,50	10,75	39,25	32,1	59,0
60	57,75	92,40	25,40	12,70	47,30	37,9	71,1
70	58,15	98,86	31,86	15,93	54,07	47,6	81,3

Tabelle VI. Refraktometrische Eiweißbestimmung im Kaninchenblut-Serum und die daraus berechnete Wasserverteilung.
(Körperchenvolumen 33,5%, Serumvolumen 66,5%.)

Prozente des zugefügten Wassers zum 100 Vol.-Blute	Brechungsindices	Eiweiß %	Wasserverteilung in Prozenten des Gesamtblutes: Körperchen	Wasserverteilung in Prozenten des Gesamtblutes: Serum	Wasserverteilung in Proz. von Körperchen- resp. Serumvolumen: Körperchen	Wasserverteilung in Proz. von Körperchen- resp. Serumvolumen: Serum
Ursprüngl. Serum	1,3470	6,41	—	—	—	—
5	1,3462	6,08	1,41	3,59	4,2	5,4
10	1,3455	5,82	2,69	7,31	8,0	11,0
20	1,3442	5,18	4,24	15,76	12,7	23,7
30	1,3432	4,74	6,60	23,40	19,7	35,2
40	1,3425	4,37	8,94	31,06	26,7	46,7
50	1,3418	4,06	11,50	38,50	34,3	57,9
60	1,3411	3,73	12,25	47,75	36,6	71,8
70	1,3406	3,54	16,07	53,93	48,0	81,1

Tabelle VII. Volumenmessung der Rinderblutkörperchen und die daraus berechnete Wasserverteilung.
(Körperchenvolumen 41%, Serumvolumen 59%).

Prozente des zugefügten Wassers zum 100 Vol.-Blute	Gefund. Körperchenvolumen	Korrigierte Volumen	Volumenunterschied	Wasserverteilung in Prozenten des Gesamtblutes: Körperchen	Wasserverteilung in Prozenten des Gesamtblutes: Serum	Wasserverteilung in Proz. v. Körperchen- resp. Serumvolumen: Körperchen	Wasserverteilung in Proz. v. Körperchen- resp. Serumvolumen: Serum
Ursprüngl. Blut	82,00	—	—	—	—	—	—
5	81,50	85,58	3,58	1,79	3,21	4,4	5,4
10	80,00	88,00	6,00	3,00	7,00	7,3	11,9
15	79,00	90,85	8,85	4,43	10,57	10,8	17,9
20	77,75	93,30	11,30	5,65	14,35	13,8	24,3
25	76,75	95,94	13,94	6,97	18,03	17,0	30,6
30	76,25	99,13	17,13	8,57	21,43	20,9	36,3
35	75,25	101,59	19,59	9,80	25,20	23,9	42,7
40				Spur Hämolyse			

Tabelle VIII. Refraktometrische Eiweißbestimmung im Rinderblut-Serum und die daraus berechnete Wasserverteilung.
(Körperchenvolumen 41%, Serumvolumen 59%.)

Prozente des zugefügten Wassers zum 100 Vol.-Blute	Brechungsindices	Eiweiß	Wasserverteilung in Prozenten des Gesamtblutes: Körperchen	Wasserverteilung in Prozenten des Gesamtblutes: Serum	Wasserverteilung in Proz. von Körperchen- resp. Serumvolumen: Körperchen	Wasserverteilung in Proz. von Körperchen- resp. Serumvolumen: Serum
Ursprüngl. Blut	1,3480	7,00	—	—	—	—
5	1,3473	6,62	1,64	3,36	4,0	5,7
10	1,3465	6,25	2,92	7,08	7,1	12,0
15	1,3458	5,93	4,38	10,62	10,7	18,0
20	1,3452	5,60	5,25	14,75	12,8	25,0
25	1,3447	5,38	7,24	17,76	17,7	30,1
30	1,3441	5,14	8,64	21,36	21,0	36,2
35	1,3436	4,91	9,87	25,13	24,1	42,6

Tabelle IX.

Volumenmessung der Menschenblutkörperchen und die daraus berechnete Wasserverteilung.

(Körperchenvolumen 37,5%, Serumvolumen 62,5%).

Prozente des zugefügten Wassers zum 100 Vol-Blute	Gefund. Körperchenvolumen	Korrigierte Volumen	Volumenunterschied	Wasserverteilung in Prozenten des Gesamtblutes		Wasserverteilung in Proz. v. Körperchen- resp. Serumvolumen	
				Körperchen	Serum	Körperchen	Serum
Ursprüngl. Blut	75,00	—	—	—	—	—	—
5	74,25	77,96	2,96	1,48	3,52	4,0	5,6
10	73,00	80,30	5,30	2,65	7,35	7,1	11,8
20	70,75	84,92	9,92	4,96	15,04	13,2	24,0
30	68,50	89,05	14,05	7,03	22,97	18,7	36,8
40	67,75	94,85	19,85	9,93	30,07	26,5	48,1
50	67,50	101,25	26,25	13,13	36,87	35,0	59,0
55	68,00	105,40	30,40	15,20	39,80	40,5	63,7
60	Spur Hämolyse						

Tabelle X.

Refraktometrische Eiweißbestimmung im Menschenblutserum und die daraus berechnete Wasserverteilung.

(Körperchenvolum 37,5%, Serumvolum 62,5%.)

Prozente des zugefügten Wassers zum 100 Vol.-Blute	Brechungsindices	Eiweiß	Wasserverteilung in Prozenten des Gesamtblutes		Wasserverteilung in Proz. von Körperchen- resp. Serumvolumen	
			Körperchen	Serum	Körperchen	Serum
Ursprüngl. Blut	1,3473	6,59	—	—	—	—
5	1,3465	6,25	1,62	3,38	4,3	5,4
10	1,3457	5,89	2,56	7,44	6,8	11,9
20	1,3445	5,30	4,81	15,19	12,8	24,3
30	1,3434	4,82	7,06	22,94	18,8	36,7
40	1,3427	4,42	9,75	30,25	26,0	48,4
50	1,3420	4,15	13,25	36,75	35,3	58,8
55	1,3418	4,06	16,06	38,94	42,8	62,3

Aus dem Vorangehenden erhellt somit, daß die beiden Methoden für die Wasserbestimmung fast übereinstimmende Resultate ergeben haben.

Um die Wasserverteilung für die drei Blutarten übersichtlich darzustellen, habe ich in Tabelle XI, die in den vorigen Tabellen erhaltenen Ziffern umgerechnet für den Fall eines Standardblutes mit 40% Blutkörperchen und 60% Serum.

Tabelle XI. Wasserverteilung auf Blutkörperchen und Serum von Kaninchen-, Rinder- und Menschenblut.

(Umgerechnet in Körperchenvolumen 40%, Serumvolumen 60%.)

Prozente des zugefügten Wassers zum 100 Vol.-Blute	Versuchsmaterial K = Kaninchen-, R = Rinder-, M = Menschenblut	Wasserverteilung in Prozenten des Gesamtblutes				von Körperchen- resp. Serumvolumen				des zugefügten Wassers			
		Körperchen	Durchschnitt	Serum	Durchschnitt	Körperchen	Durchschnitt	Serum	Durchschnitt	Körperchen	Durchschnitt	Serum	Durchschnitt
5	K	1,85	1,73	3,15	3,27	4,6	4,3	5,3	5,5	37,0	34,5	63,0	65,5
	R	1,68		3,32		4,2		5,5		33,6		66,4	
	M	1,65		3,35		4,1		5,6		33,0		67,0	
10	K	3,28	3,04	6,72	6,96	8,2	7,6	11,2	11,6	32,8	30,3	67,2	69,6
	R	2,89		7,11		7,2		11,9		28,9		71,1	
	M	2,94		7,06		7,4		11,8		29,4		70,6	
20	K	5,39	5,31	14,61	14,69	13,5	13,3	24,4	24,5	27,0	26,6	73,0	73,4
	R	5,32		14,68		13,3		24,5		26,6		73,4	
	M	5,22		14,78		13,1		24,6		26,1		73,9	
30	K	7,81	7,91	22,19	22,09	19,5	19,8	37,0	36,8	26,0	26,4	74,0	73,4
	R	8,40		21,60		21,0		36,0		28,0		72,0	
	M	7,52		22,48		18,8		37,5		25,1		74,9	
35	R	9,60		25,40		24,0		42,3		27,4		72,6	
40	K	10,83	10,67	29,17	29,33	27,1	26,7	48,6	48,9	27,1	26,7	72,9	73,3
	M	10,50		29,50		26,3		49,2		26,3		73,7	
50	K	13,29	13,68	36,71	36,32	33,2	34,2	61,2	60,9	26,6	27,4	73,4	72,3
	M	14,07		35,93		35,2		59,9		28,1		71,9	
55	M	16,67		38,33		41,7		63,9		30,3		69,7	
60	K	14,90		45,10		37,2		75,2		24,8		75,2	
70	K	19,10		50,90		47,8		84,8		27,3		72,7	

In dieser Tabelle habe ich auch die Verteilung des Wassers auf Blutkörperchen und Serum im Prozentsatz des zugesetzten Wassers aufgestellt, z. B. im Falle, wo 5 Volumen Wasser zu 100 Volumen Blut gesetzt wurden, sind beim Kaninchenblute die Volumenzunahmen 1,85 für die Körperchen, 3,15 für das Serum, also im Prozente des versetzten Wasservolumens zeigen sie die Zahlen von

$$\frac{1,85}{5} \cdot 100 = 37,0\% \quad \text{resp.} \quad \frac{3,15}{5} \cdot 100 = 63,0\% \text{ usw.}$$

Man sieht, daß die drei Tierarten, was die Verteilung des zugesetzten Wassers auf die Blutelemente anbelangt, ziemlich übereinstimmende Werte zeigen, auch für die verschiedenen Verdünnungen untereinander; überall erhält das Serum seiner Menge entsprechend ein größeres Volumen Wasser, die Blutkörperchen ein kleineres.

Es zeigt sich auch hier wieder die längst bekannte Tatsache, daß die Blutkörperchen des Menschen und des Kaninchens mehr Wasser vertragen als diejenigen des Rindes, bevor Hämolyse stattfindet.

Bemerkenswert ist in dieser Hinsicht, daß in diesen Versuchen, wo das Gesamtvolumen der Blutkörperchen ein wichtiger Faktor ist, dennoch nicht ein größeres verdünnendes Wasservolumen vertragen wird, vor Eintritt der Hämolyse, als bei den Versuchen, wo geringe Mengen Blutkörperchen in großen Quantitäten der Zusatzflüssigkeit aufgeschwemmt wurden. Es ist ja bekannt, daß auch in letzterem Falle die Hämolyse beim Kaninchen erst nach Zusatz von mehr als 75% Wasser, beim Rinde nach etwa 50% Wasser eintritt. Wir können darauf hier weiter nicht eingehen, auch deshalb, weil schon eine sehr geringfügige Hämolyse in unseren Versuchen bei den großen Mengen Blutkörperchen eine intensive Rotfärbung geben muß.

Zusammenfassung.

Aus den mitgeteilten Versuchen ergibt sich, daß, wenn man Blut in vitro mit Wasser versetzt, in Verhältnissen, die auch physiologisch im Körper erwartet werden können, die Verteilung desselben bei allen Verdünnungen in der Weise stattfindet, daß das Serum im Verhältnis zu seiner Menge mehr Wasser aufnimmt

als die Blutkörperchen. In dieser Hinsicht zeigen verschiedene Blutarten (Rind, Kaninchen und Mensch) nur geringe Unterschiede.

Refraktometrie und Hämatokritmethode ergaben gleiche Resultate.

Zum Schlusse möchte ich Herrn Prof. H. J. Hamburger für seine gütige Anregung und Unterstützung bei meiner Arbeit, sowie Herrn Dr. J. de Haan für die liebenswürdige Beihilfe bei den Versuchen bestens danken.

Die narkotische Wirkung des Benzins und seiner Bestandteile (Pentan, Hexan, Heptan, Octan).

Von

H. Fühner.

(Aus dem pharmakologischen Institut der Universität Königsberg i. Pr.)

(Eingegangen am 18. Januar 1921.)

Mit 1 Abbildung im Text.

Das in Deutschland offizinelle Petroleumbenzin wird aus amerikanischem Erdöl gewonnen und geht bei der Destillation, nach der Forderung des Arzneibuches, zwischee 50 und 75° über. Es besteht in der Hauptsache aus den normalen Grenzkohlenwasserstoffen Pentan (Siedepunkt 36,3°), Hexan (Siedepunkt 69°) und Heptan (Siedepunkt 98°) und wird technisch als Petroläther bezeichnet, während das technische Benzin, das zu Heizzwecken und als Reinigungsmittel dient, zwischen 80 und 110° siedet und neben Hexan und Heptan Octan (Siedepunkt 125,8°) enthält.

Diese „Leichtbenzine" des Handels besitzen narkotische Eigenschaften und wurden in den sechziger Jahren des vorigen Jahrhunderts in Amerika von Bigelow u. a. zu Narkosen am Menschen versucht.

Nach Müller[1]) zeigt das Benzin aber „sehr bedenkliche Nebenwirkungen" und ist als Narkoticum unbrauchbar. Immerhin bildet der Petroläther heute noch einen Bestandteil der von Schleich[2]) zur Allgemeinnarkose empfohlenen Mischung.

Daß bei Aufnahme großer Benzinmengen durch die Lungen oder innerlich tödliche Vergiftungen zustande kommen können, ist durch zahlreiche Beispiele bekannt und neuerdings von Böhme und Köster[3])

[1]) W. B. Müller, Narkologie. Berlin 1908, Bd. I, S. 488.

[2]) C. L. Schleich, Schmerzlose Operationen. 5. Aufl., S. 70. Berlin 1906.

[3]) A. Böhme und R. Köster, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 81, 1. 1917.

anläßlich einiger Vergiftungsfälle eingehender untersucht worden. Die narkotischen und toxischen Konzentrationen für verschiedene Benzinsorten hat Lehmann[1]) gemeinsam mit seinen Schülern festgestellt.

Von den reinen Kohlenwasserstoffen, die im Benzin enthalten sind, wurde im Tierversuch von verschiedener Seite das Pentan geprüft. Nach Overton[2]) bewirkt eine wässerige Lösung dieser Substanz noch in der Verdünnung von 1 : 5000 an Kaulquappen Narkose. Nach einer Angabe von Richardson[3]) soll das Pentan kurzdauernde Anästhesie erzeugen. Umfangreiche Versuche über die narkotische Wirkung dieses Kohlenwasserstoffes an Kaninchen, Katzen und Hunden hat Elfstrand[4]) angestellt. Bei einer Vergleichung mit Äther zeigte sich eine verhältnismäßig schwache narkotische Wirkung beim Pentan. Auffällig war, daß schon bei nicht völlig ausgeschalteten Reflexen leicht Atmungsstillstand eintrat. Gilt diese Erfahrung, wie das sehr wahrscheinlich ist, auch für den Menschen und nicht nur für das Pentan, sondern auch für die übrigen Benzinbestandteile, so wird die obenerwähnte Angabe von Müller allerdings verständlich. Doch sind wohl bisher die höheren Homologen, vom Hexan an aufwärts, im Tierversuch nicht geprüft worden. Anderseits sind vielleicht schlechte Erfahrungen in früherer Zeit auf Verwendung nicht genügend gereinigter Benzin- und Petroläthersorten zurückzuführen, ebenso wie auch die in der Literatur verzeichneten Benzinvergiftungen durch toxische Beimengungen zu den reinen Kohlenwasserstoffen bedingt sein könnten. Jedenfalls erscheint es wichtig, um ein abschließendes Urteil über die Vergiftungen durch Benzin abgeben zu können, die reinen Kohlenwasserstoffe einer Prüfung zu unterwerfen. Ergab sich hierbei für die Homologen des Pentans die gleiche Unbrauchbarkeit zu Narkosezwecken wie für dieses, so erschien eine weitergehende Untersuchung der genannten Substanzen, doch immerhin noch wichtig in theoretischer Hinsicht:

Es war vor allem die Wirkungsstärke des Pentans mit Äther, die des Hexans mit Chloroform und zugleich mit Benzol zu vergleichen, Vergleiche, welchen bei den einander naheliegenden Siedepunkten besondere Bedeutung zukommt: Der offizinelle Äther siedet bei 35°, Pentan in reinster Form bei 36,3°, das von mir gebrauchte Präparat ist butanhaltig und siedet bei 30—35°. Chloroform siedet bei 62°, Hexan bei 69°, das Handelsprodukt zwischen 66—71°. Benzol steht mit seinem Siedepunkt von 80° zwischen Hexan (69°) und Heptan (98°). Zur Vergleichung mit diesem aromatischen Kohlenwasserstoffe mit seinen 6 Kohlenstoffatomen und seinem geringen Wasser-

[1]) K. B. Lehmann, Arch. f. Hyg. 75, 1. 1912.

[2]) E. Overton, Studien über die Narkose. S. 103. Jena 1901.

[3]) Vgl. A. J. Kunkel, Handbuch der Toxikologie. S. 400. Jena 1901.

[4]) M. Elfstrand, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 43, 435. 1900.

stoffgehalt (C_6H_6) forderte an erster Stelle unter den aliphatischen Kohlenwasserstoffen das Hexan heraus, mit derselben Kohlenstoffatomanzahl und seinem viel höheren Wasserstoffgehalt (C_6H_{14}).

Was die Homologen des Methans als Narkotica besonders bemerkenswert erscheinen läßt, ist ihre große chemische Beständigkeit. Während Benzol, Chloroform und Äther im Tierkörper zum Teil oxydiert werden, so daß auf Grund ihrer Oxydierbarkeit noch neuerdings Bürker[1]) eine Theorie der Narkose entwickelte, ist Oxydation dieser niederen, normalen „Paraffine" im Organismus ausgeschlossen. Unter allen sog. indifferenten Narkoticis sind sie sicherlich die indifferentesten. Besitzen diese Kohlenwasserstoffe in reiner Form narkotische Wirkung, so ist diese mit Bestimmtheit auf das unveränderte Gesamtmolekül zurückzuführen.

Für die 4 genannten Produkte, als aufeinanderfolgende Glieder einer homologen Reihe, erschien es dann reizvoll, festzustellen, ob auch ihre narkotische Wirkung schrittweise und ebenso gesetzmäßig zunimmt, wie ich[2]) es für die homologe Reihe der einwertigen Alkohole zuerst gezeigt habe.

Endlich versprachen vergleichende Bestimmungen der Wasserlöslichkeit dieser 4 Benzinbestandteile, ferner ihre Beeinflussung der Oberflächenspannung des Wassers und ihrer Teilungskoeffizienten zwischen Wasser und Öl Aufschlüsse zum Verständnis ihrer relativen narkotischen Wirkungsstärke.

Versuchsanordnung.

Zur Verwendung gelangten möglichst reine Präparate der Chemischen Fabrik C. A. F. Kahlbaum, Berlin-Adlershof, und zwar neben einem Benzin (Petroleumäther) mit Siedepunkt 50—70°, Pentan aus Petroleum (Siedepunkt 30—35°), Hexan aus Petroleum (Siedepunkt 66—71°), Hexan aus Propyljodid (Siedepunkt 68—70°), Heptan aus Petroleum (Siedepunkt 96—100°) und Octan aus Octyljodid (Siedepunkt 122—125°). Außerdem Benzol Kahlbaum und Narkoseäther und Nar-

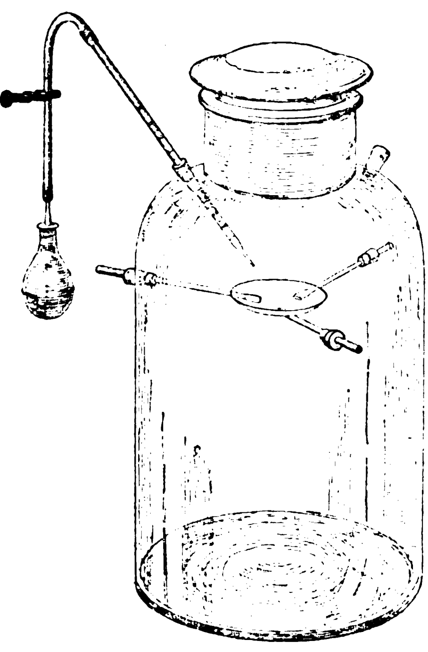
[1]) K. Bürker, Münch. med. Wochenschr. 1910, Nr. 27.

[2]) H. Fühner, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 52, 69. 1904. Zeitschr. f. Biol. 57, 465. 1912.

kosechloroform verschiedener Fabriken (Schering, Riedel u. a.).

Als Versuchstiere dienten weiße Mäuse, die vorzugsweise mit Hafer, Brot und Trockengemüse gefüttert wurden, neben wenigen weißen Ratten.

Die Versuche wurden in einer „Narkoseflasche" ausgeführt, wie ich[1]) sie 1912 und 1913 schon kurz beschrieben, seither aber verbessert habe und in der nebenstehenden Abbildung wiedergebe. Sie geht zurück auf eine Versuchsanordnung von Straub[2]), der 1912 zu Vorlesungszwecken Versuche an weißen Mäusen in luftdicht verschlossenen Glasbüchsen von $2^1/_2$ Liter Inhalt empfahl mit Chloroform- und Äthermengen, die in einer Pravazspritze abgemessen wurden. Schon in dieser ursprünglichen Gefäßgröße bleibt eine Maus ohne Narkoticum mehrere Stunden hindurch normal und zeigt erst nach 7 bis 8 Stunden Erstickungserscheinungen. Ich verwende jetzt 10 kg-Glasstöpselpulverflaschen mit einem gemessenen Inhalt von 11 200 bis 11 300 ccm, deren Öffnung genügend weit ist, um Hand und Arm einführen zu können. In den Flaschen lassen sich nicht nur Mäuse, sondern auch Ratten und kleine Meerschweinchen ohne Erstickungsgefahr narkotisieren oder mit in der Flasche entwickelten Gasen vergiften. 1—2 Mäuse halten sich selbst 24 Stunden und länger, ohne zu ersticken, in den Gefäßen.


Abb. 1. Narkoseflasche.

[1]) H. Fühner, Verhandl. d. Naturforschervers. z. Münster i. W. 1912, II, S. 369. — Derselbe, Dtsch. med. Wochenschr. 1913, Nr. 3, S. 143. — Die Narkoseflasche kann durch den Mechaniker des Pharmakologischen Institutes der Universität Freiburg i. Br., Lantzsch, bezogen werden.

[2]) W. Straub, Zeitschr. f. biol. Technik u. Methodik 2, 277. 1912.

Wie die Abbildung zeigt, sind in die Wand der Flasche 5 Löcher von etwa 7 mm Durchmesser eingebohrt, die durch Korke verschlossen werden können. Im oberen Drittel der Flasche finden sich in gleicher Höhe, symmetrisch verteilt, 3 Löcher, in denen fast bis zur Gefäßmitte ragende Glasstäbe mit durchbohrtem Kork befestigt werden. Die Glasstäbe sind an ihrem inneren Ende verbreitert und tragen das Verdampfungsgefäß der Narkotica. Zur Verdampfung kann, wie in der Abbildung gezeichnet, ein Uhrglas Verwendung finden, das, wenn nötig, mit einer Drahtfassung befestigt werden kann. Zu den Narkoseversuchen dieser Arbeit gebrauchte ich durchweg eine aus Schreibpapier gefaltete Tüte. Abgesehen davon, daß in dem Papier das Narkoticum sich capillar verteilt und dadurch rascher verdampft, was besonders für das Oktan mit seinem hohen Siedepunkt wichtig ist, bietet die Tüte den Vorzug, daß die Flasche nach Verdampfung der Flüssigkeit umgelegt werden kann zur besseren Verfolgung der Narkosestadien, namentlich zur Feststellung des Zeitpunktes, wann die Versuchstiere Seitenlage ertragen.

Außer den erwähnten 3 Bohrungen sind in der Flasche, nach der Mündung zu, 2 weitere, einander gegenüberliegend, angebracht. Die eine wird, wie die Abbildung zeigt, während der Versuche gewöhnlich mit einem Kork verschlossen gehalten. Sie kann Verwendung finden zum Absaugen des Flascheninhaltes, wenn derselbe analytisch geprüft werden soll, oder zur Anbringung eines Manometerrohres u. a. m. In der zweiten Öffnung wird mit Kork eine graduierte Pipette befestigt. Sie wird soweit eingeführt, daß ihre Spitze innen über das Verdampfungsgefäß ragt. Das äußere Ende wird mit einem Stück Gummischlauch mit Quetschhahn versehen, der eine kleine Gummispritze trägt. Durch rhythmische Kompression des Gummiballes wird die in der Pipette abgemessene Menge des Narkoticums auf Uhrglas oder Papier zur Verdampfung gebracht und darauf der Quetschhahn geschlossen. Um die Flasche besser bewegen zu können, wird die Pipette samt Schlauch und Gummiball einige Zeit nach Verdampfung der Substanzen entfernt und die Öffnung rasch durch einen Kork verschlossen.

Die Narkoseflaschen bieten den großen Vorzug, daß sie in einfachster Weise Versuche mit bestimmten Narkoticumkonzentrationen an kleinen Warmblütern gestatten. Zu den Versuchen

eignen sich in erster Linie Substanzen, die einen Siedepunkt unter 100° haben und nicht zu schwach wirksam sind: An der unteren Grenze der Verwendbarkeit steht z. B. das Pentan, von dem zur Narkose mehr als 5 ccm verdampft werden müssen. Dadurch entsteht ein hoher Dampfdruck in der Flasche, wobei der Stöpsel emporgehoben werden kann. Entsprechendes gilt auch für toxische Gase: Die Flasche eignet sich gut zu Versuchen z. B. mit Chlor, Blausäure, Arsenwasserstoff, Schwefelwasserstoff, schwefliger Säure, die in der Flasche selbst entwickelt werden, nicht dagegen zu solchen mit Kohlensäure, welche aus Natriumbicarbonat und Schwefelsäure dargestellt wird.

Für die geprüften Narkotica erwies es sich als besonders wertvoll, daß vergleichende Versuche gleichzeitig in mehreren Flaschen nebeneinander vorgenommen werden konnten, unter genau denselben äußeren Bedingungen, namentlich derselben Temperatur. Unter 18° Zimmertemperatur wurden keine Versuche angestellt. Für lange dauernde Versuche wurden möglichst Temperaturen von etwa 20° gewählt, da Mäuse in der Narkose leicht erfrieren. Man könnte zu den Versuchen den Boden der Flaschen mit Papier oder Pappe als schlechten Wärmeleitern belegen. Einfacher ist, nach Herabfallen der Narkosetüten auf den Boden der Flasche, die Tiere, nachdem sie Seitenlage ertragen, auf diese heraufzubringen, was mit einigem Geschick regelmäßig gelingt. Nach Herausnahme der Tiere aus der Flasche wurden sie bis zur Erholung von der Wirkung der Narkotica möglichst warm gehalten.

Versuche.

Es sollen hier zuerst die Versuche mit den der Vergleichung dienenden Substanzen Äther, Chloroform und Benzol besprochen werden. Nachher einige mit Benzin (Petroläther) angestellte Versuche und dann diejenigen mit den reinen Kohlenwasserstoffen.

Verbringt man eine weiße Maus in die Narkoseflasche und verdampft darin eines der genannten Narkotica, so lassen sich, entsprechend der angewandten Menge, die verschiedenen Stadien der Narkose verfolgen.

Als geeignet zur Vergleichung bei allen geprüften Substanzen erwies sich der Zeitpunkt, von dem ab die Versuchstiere dauernd Seitenlage ertragen. Seine Bestimmung wird durch Umlegen

der Flasche erleichtert. Bei allen Substanzen ist zu dieser Zeit die Atmung im allgemeinen noch eine gute. Dagegen zeigte sich dieselbe im Stadium der Reflexlosigkeit bei den Kohlenwasserstoffen, im Gegensatz zu Äther und Chloroform, weitgehend verlangsamt, und dies gilt in gleicher Weise für das offizinelle Petroleumbenzin wie für die reinen Kohlenwasserstoffe. Dies gilt aber in besonders hohem Maße für das Benzol. Eine reflexlose Benzolnarkose wird von den Versuchstieren nur sehr kurze Zeit ertragen, während die Einatmung der Benzinbestandteile von manchen Versuchstieren doch auffallend lang bei weitgehend verlangsamter Atmung ertragen wird, ohne daß der Tod eintritt. Einige Versuche wurden bis zum Atmungsstillstand ausgedehnt.

In den Tabellen I—VIII sind zuerst die Versuche an Mäusen aufgezählt; darauf die an Ratten. Die gebrauchte Menge des Narkoticums ist in Spalte 3 in Kubikzentimetern pro Flasche angegeben; in Spalte 4 in Gramm pro Liter berechnet. In den folgenden Spalten der Tabellen ist in Minuten angegeben, wann die Tiere Seitenlage ertrugen, wann Reflexlosigkeit eintrat, wann sie aus der Flasche genommen wurden und wann sie gegebenenfalls eingingen.

Die Reflexe wurden durch Beklopfen der Flasche geprüft. Die narkotische Lähmung ist bei allen Substanzen eine aufsteigende: Erst erlöschen die Reflexe in der Hinterhand, dann die

Tabelle I.

Versuche mit Äther.

Nr.	Gewicht g		Pro Flasche ccm	Pro Liter g	Seitenlage nach Min.	Reflexlosigkeit nach Min.	Aus der Flasche genommen nach Min.	Verlauf
49	Maus	15	1,0	0,061	—	—	130	Erholung
103	„	16	1,0	0,061	—	—	77	„
104	„	17	1,2	0,074	72	—	80	„
106	„	18	1,3	0,080	42	67 f. r.	77	„
120	„	17	1,3	0,082	17	21	36	„
128	„	16	1,3	0,082	15	22 f. r.	28	„
101	„	20	1,5	0,092	10	36	36	„
174	„	19	1,5	0,092	10	20	160	„
102	„	17	2,0	0,124	5	9	13	„
183	„	13	2,0	0,123	7	12	—	† nach 126 Min.
190	Ratte	78	2,0	0,124	15	10	—	† „ 144 „

des Vordertieres; zuletzt zucken auf Reizung nur noch die Ohren. Letzterer Zustand wurde in der Tabelle mit „fast reflexlos“ (f. r.) bezeichnet. In Spalte 7 ist angegeben, wann Tiere, die während des Versuches nicht eingingen, aus der Flasche genommen wurden. Sie sind in einzelnen Fällen noch nachträglich gestorben, was dann in Spalte 8 vermerkt wurde. Hier ist auch die Zeit notiert, innerhalb welcher einzelne Tiere während der Versuche starben, wobei besonders vermerkt wurde, wenn die Mäuse plötzlich in einem Streckkrampf eingingen.

Im einzelnen ist zur Wirkung der geprüften Substanzen folgendes zu berichten:

Äther besitzt in der Konzentration von 0,06 g pro Liter (1 ccm pro Flasche) im Verlauf von 2 Stunden noch keine narkotische Wirkung für die weiße Maus. Die Tiere werden anfänglich erregt, dann schläfrig und in ihren Bewegungen unsicher. Die Reflexe werden abgeschwächt. Die normale Atemfrequenz von über 200 pro Minute geht allmählich auf 150 herab, ohne daß aber Seitenlage ertragen wird. Auch in der nächst höheren geprüften Konzentration von 0,07 g pro Liter (1,2 ccm pro Flasche) wird Seitenlage erst nach langem Verweilen in der Flasche ertragen, ohne daß Reflexlosigkeit eintritt: sie kann als narkotische Grenzkonzentration des Äthers für die weiße Maus angesehen werden. Raschere tiefe Narkose mit Aufhebung der Reflexe bewirkt 0,08 g pro Liter (1,3 ccm pro Flasche). Seitenlage wird hier nach 15—40 Minuten ertragen; die Reflexe erlöschen nach 20—60 Minuten. Die Atemfrequenz kann hierbei im Verlauf einer halben Stunde auf die Hälfte abgesunken sein. In Ätherkonzentrationen von 0,09 g pro Liter (1,5 ccm pro Flasche) wird Seitenlage in 10 Minuten, Reflexlosigkeit in 20—30 Minuten erreicht; dagegen in der Konzentration von 0,12 g pro Liter (2 ccm pro Flasche) beides in der halben Zeit.

Während die Verdünnung von 0,09 g pro Liter mehrere Stunden von einem Versuchstier (Nr. 174) ertragen wurde, wobei dessen Atemfrequenz von anfänglich 220 pro Minute langsam bis auf 66 pro Minute absank, ging ein Tier (Nr. 183) in der Verdünnung von 0,12 g pro Liter, dessen Atmung innerhalb 2 Stunden auf 30 pro Minute abgesunken war, bald darauf in der Flasche ein. Eine junge Ratte (Nr. 190) mit der normalen Atemfrequenz von 140 pro Minute starb in derselben Ätherkonzentration erst

nach etwa $2^1/_2$ Stunden. Nach 2stündigem Verweilen des Tieres in der Flasche wurden 38 Atemzüge gezählt. Die für Mäuse zu Narkosen von längerer Dauer brauchbaren Ätherkonzentrationen liegen demnach zwischen 0,08 und 0,1 g pro Liter Luft. Höhere Konzentrationen werden ohne Gefahr nur kurze Zeit ertragen. Auch nach lange dauernder tiefer Äthernarkose erholen sich die Tiere wieder rasch und vollständig.

Tabelle II.

Versuche mit Chloroform.

Nr.	Gewicht g	Pro Flasche ccm	Pro Liter g	Seitenlage nach Min.	Reflexlosigkeit nach Min.	Aus der Flasche genommen nach Min.	Verlauf
36	Maus 15	0,1	0,012	—	—	135	Erholung
37	„ 25	0,2	0,025	54	54 f. r.	60	„
105	„ 18	0,2	0,023	40	40	50	„
122	„ 21	0,2	0,023	43	43 f. r.	56	† nach 2 Tagen
107	„ 20	0,3	0,036	8	28	28	† „ 2 „
38	„ 13	0,3	0,038	13	13	17	Erholung
192	„ 19	0,3	0,036	8	8	—	† nach 35 Min.
191	Ratte 62	0,3	0,038	15	15	—	† „ 60 „

Ein viel gefährlicheres Narkoticum als der Äther ist für die weiße Maus das Chloroform. Eine mehrstündige Einwirkung selbst von Verdünnungen, die keine Reflexlosigkeit hervorrufen, kann dauernde Lähmungen der Tiere hinterlassen, die im Verlauf mehrerer Tage zum Tode führen. 2 nachträgliche Todesfälle nach verhältnismäßig kurzen Narkosen sind in der Tabelle II verzeichnet. Über diese Seite der Chloroformwirkung an der weißen Maus soll an anderer Stelle ausführlichere Mitteilung erfolgen.

Während die Chloroformverdünnung von 0,012 g pro Liter (0,1 ccm pro Flasche) lediglich hypnotische Wirkung an der weißen Maus äußert, bewirken 0,024 g pro Liter (0,2 ccm pro Flasche) langsam im Verlauf von etwa einer Stunde reflexlose Narkose. In der Verdünnung von 0,036 g pro Liter (0,3 ccm pro Flasche) wird Seitenlage innerhalb einer Viertelstunde ertragen; fast gleichzeitig sind die Reflexe erloschen. Diese Verdünnung kann aber im Verlauf einer halben Stunde schon tödliche Narkose des Atemzentrums bewirken. (Versuch Nr. 192.) Eine Ratte (Nr. 191) erwies sich auch hier als etwas widerstandsfähiger, ging aber immerhin auch nach einer Stunde ein.

Tabelle III.

Versuche mit Benzol.

Nr.	Gewicht g	Pro Flasche ccm	Pro Liter g	Seitenlage nach Min.	Reflexlosigkeit nach Min.	Aus der Flasche genommen nach Min.	Verlauf
31	Maus 18	0,1	0,007	—	—	62	Erholung
32	„ 18	0,2	0,015	51	—	79	„
40	„ 21	0,3	0,023	17	—	37	„
63	„ 19	0,3	0,023	9	—	16	„
185	„ 13	0,3	0,023	12	—	180	„
30	„ 19	0,5	0,038	8	—	13	„
188	„ 15	0,5	0,038	10	33 f. r.	—	† nach 38 Min.
199	Ratte 180	0,5	0,038	9	255	—	† „ 295 „
189	„ 63	1,0	0,077	10	40	—	† „ 50 „

Ganz anders als die Wirkung von Chloroform und Äther äußert sich an der Maus die des Benzols. Während die beiden ersten rasch zur ruhigen Narkose führen, ist das beim Benzol nicht der Fall. Von der Konzentration von 0,015 g pro Liter (0,2 ccm pro Flasche) an zeigt sich die Hauptwirkung der Substanz in einer heftigen Zitterbewegung des ganzen Körpers, die stundenlang (Nr. 185) andauern kann, wobei das Tier, das anfänglich mit starr emporgerichtetem Schwanz umherläuft, allmählich Seitenlage erträgt. Dies gilt für Verdünnungen bis etwa 0,03 g pro Liter (0,4 ccm pro Flasche), die längere Zeit ertragen werden, ohne daß die Atemfrequenz unter 150 absinkt. Die Sensibilität der Tiere nimmt hierbei, wie sich nach Herausnahme aus der Flasche zeigte, stark ab bei gut erhaltenen Reflexen. In der Verdünnung von etwa 0,04 g pro Liter (0,5 ccm pro Flasche) sind Reflexe vorhanden, und die Atmung ist frequent, solange die Zitterbewegungen vorhanden sind. Erlöschen diese, nimmt Atemfrequenz und Reflextätigkeit rasch ab, und bei vollständig erloschenen Reflexen steht die Atmung bald still. Auch an Ratten äußert sich die Benzolwirkung ähnlich, wenn auch schwächer. Namentlich die Zitterbewegung ist wie bei der Maus vorhanden.

Die Wirkung des Petroleumbenzins an der weißen Maus unterscheidet sich weitgehend von der des Benzols. In der narkotischen Konzentration von 0,12—0,15 g pro Liter (2—2,5 ccm pro Flasche) ist zwar anfänglich ein Exzitationsstadium zu beobachten, in welchem häufig krankhafte Zitterbewegungen auftreten; doch gehen diese meist rasch vorüber. Es kann sich dann

Tabelle IV.

Versuche mit Petroläther.

Nr.	Gewicht g	Pro Flasche ccm	Pro Liter g	Seitenlage nach Min.	Reflexlosigkeit nach Min.	Aus der Flasche genommen nach Min.	Verlauf
29	Maus 14	1,8	0,109	60	—	73	Erholung
177	„ 19,5	2,0	0,123	15	100	—	† nach 104 Min.
195	„ 15	2,5	0,153	17	90	—	† „ 92 „
176	„ 19	2,5	0,153	8	18	—	† „ 31 „
198	„ 14	3,0	0,182	5	—	—	† „ 50 „
193	„ 16	3,0	0,182	14	42	—	† „ 48 „
28	„ 16	3,0	0,182	—	—	—	† „ 36 „ (Krampf)
200	Ratte 130	3,0	0,183	7	20	—	† nach 75 Min.

eine ruhige Narkose einstellen mit nur wenig verlangsamter Atmung und stark abgeschwächten Reflexen. Die anfänglich normale Atmung wird später häufig unregelmäßig und angestrengt. Zeitweilig kann sie ganz aussetzen und die Tiere werden cyanotisch. Kommen sie nicht bald aus der Flasche heraus, so kann Lähmung des Atemzentrums in der ersten halben Stunde erfolgen. In der Verdünnung von 0,15 g pro Liter war ein Versuchstier (Nr. 176) in 18 Minuten reflexlos bei einer Atemfrequenz von 112. 10 Minuten später war diese auf 88 gesunken, um dann plötzlich stillzustehen ohne Krampf des Tieres. Dieses frühe Eingehen der Tiere in der genannten Verdünnung ist nicht die Regel: Eine andere Maus (Nr. 195) starb darin erst in 92 Minuten, nachdem die Atmung langsam auf 14 pro Minute zurückgegangen war. Bemerkenswert und typisch ist in diesem letzteren Versuche das Erlöschen der Reflexe erst 2 Minuten vor dem Atmungsstillstand. In der höheren Konzentration von 0,18 g pro Liter (3 ccm pro Flasche) trat der Tod bei einem Tier (Nr. 198) nach 50 Minuten ein, sogar ohne vorherige Reflexlosigkeit. Auch hier stand die Atmung plötzlich still, nachdem kurz vorher noch 64 Züge pro Minute gezählt worden waren. Bei den nicht völlig reflexlosen Tieren erfolgt der Tod nicht selten unvermutet in einem mehr oder weniger starken Streckkrampf. Ein solcher Fall (Nr. 28) ist in der Tabelle IV aufgenommen.

Rasche Todesfälle wie hier beim Petroläther sah ich auch bei den geprüften Kohlenwasserstoffen, besonders auffällig und wiederholt beim Heptan.

Von den isolierten Grenzkohlenwasserstoffen eignet sich das Pentan, wie erwähnt, nicht gut zu Versuchen in der Narkoseflasche, da davon zu große Mengen verdampft werden müssen. Durch Verdampfung von 5—7 ccm der Substanz entsteht in der Flasche ein Überdruck von mehreren Millimetern Quecksilber, wodurch der Stöpsel emporgehoben werden kann. Dies läßt sich durch Benetzen desselben mit Wasser oder durch Anbringen eines Manometerrohres an der Flasche verhindern. Die anfängliche Drucksteigerung geht nach einiger Zeit, wohl infolge Undichtigkeit der Flasche, wieder zurück.

Tabelle V.

Versuche mit Pentan.

Nr.	Gewicht g	Pro Flasche ccm	Pro Liter g	Seitenlage nach Min.	Reflexlosigkeit nach Min.	Aus der Flasche genommen nach Min.	Verlauf
20	Maus 15	5,0	0,269	66	—	116	Erholung
60	„ 15	5,5	0,299	37	97	105	„
22	„ 15	6,0	0,320	26	—	89	„
23	„ 18	7,0	0,373	15	50 f. r.	55	„
24	„ 16	7,0	0,377	7	21 f. r.	28	„
186	„ 12,5	7,0	0,377	5	26	—	† nach 37 Min.
56	Ratte 75	6,0	0,320	35	55 f. r.	55	Erholung

In der Konzentration von 0,27 g Pentan pro Liter Luft, die durch Verdampfung von 5 ccm Flüssigkeit in der Narkoseflasche erzielt wird, werden Mäuse noch nicht narkotisiert. Sie ertragen vorübergehend Seitenlage, ein Zustand, der sich erst spät einstellt und bei langer Dauer des Versuches, vielleicht infolge von Substanzverlusten, wieder vorübergeht. 6 ccm Pentan pro Flasche entsprechen einer Konzentration von 0,32 g pro Liter. Hier wurde von einem Versuchstier (Nr. 22) Seitenlage nach etwa einer halben Stunde ertragen. Die Atmung war noch frequent, die Reflexe abgeschwächt. Auch diese Wirkung nahm im Verlauf von $1^1/_2$ Stunden wieder ab, ohne daß Reflexlosigkeit erzielt worden wäre. Letztere wurde erst durch 7 ccm Substanz (0,38 g pro Liter) bei einigen z. T. nicht in der Tabelle V aufgeführten Tieren erreicht oder die Narkose vertiefte sich wenigstens soweit, daß nur noch die Ohren beim Beklopfen der Flasche zuckten. Doch kann diese Pentankonzentration schon rasch zum Tode

führen, wie Tier Nr. 186 zeigt. Die Atemfrequenz sank hier allmählich ab und in tiefer Narkose starb die Maus in 37 Minuten ohne Krampf, nachdem 11 Minuten vorher bei einer Atemfrequenz von 64 pro Minute vollständige Reflexlosigkeit eingetreten war.

Tabelle VI.

Versuche mit Hexan.

Nr.	Gewicht g	Pro Flasche ccm	Pro Liter g	Seitenlage nach Min.	Reflexlosigkeit nach Min.	Aus der Flasche genommen nach Min.	Verlauf
			Hexan aus Petroleum:				
61	Maus 17	2,0	0,123	34	—	62	Erholung
13	„ 15	2,0	0,122	90	—	123	„
16	„ 19	2,2	0,134	33	—	41	„
26	„ 19	2,2	0,134	32	—	60	„
179	„ 15,5	2,2	0,135	20	75	—	† nach 127 Min.
15	„ 17	2,4	0,146	15	—	45	Erholung
19	„ 19	2,4	0,147	13	—	83	„
12	„ 21	2,5	0,154	22	—	29	„
196	„ 15	2,5	0,154	15	57	—	† nach 119 Min.
175	„ 19	2,5	0,154	9	39	—	† „ 73 „
21	„ 17	3,0	0,183	10	20 f. r.	20	Erholung
194	„ 15	3,0	0,183	10	31	—	† nach 51 Min.
197	„ 14,5	3,0	0,183	—	—	—	† „ 9 „ (Krampf)
			Hexan aus Propyljodid:				
17	Maus 18	2,2	0,134	60	75 f. r.	86	Erholung
27	„ 22	2,2	0,131	37	42 f. r.	—	† uach 45 Min.
178	„ 16,5	2,2	0,131	15	34	—	† „ 39 „
18	„ 17	2,4	0,141	14	23 f. r.	26	Erholung

Gut für die Dosierung in der Narkoseflasche eignet sich das Hexan, von dem nicht ganz die halben gemessenen Mengen wie für das Pentan zu entsprechender Wirkung in Betracht kommen. Zu leicht narkotischer Wirkung genügen für eine Maus in der Versuchsflasche schon Mengen von 2 ccm des Petroleumproduktes, die eine Konzentration von 0,12 g pro Liter ergeben. Während in dieser Verdünnung Reflexlosigkeit selbst nicht in 2 Stunden herbeigeführt wird, wurde dies in einem Versuche mit 2,2 ccm (0,13 g pro Liter) in 75 Minuten erreicht. An diesem Tier (Nr. 179) wurde auch bestimmt, in welcher Zeit der Tod in der Flasche eintritt. Unter ganz allmählicher Abnahme der Atemfrequenz (nach 1 Stunde 90, nach $1^1/_2$ Stunden 18, nach 2 Stunden 12 Atemzüge) starb die Maus in 127 Minuten. In 2 Ver-

suchen (Nr. 175 und 196) mit 2,5 ccm (0,15 g pro Liter) wurde Seitenlage nach 9 und 15 Minuten ertragen; die Reflexe waren nach 39 und 57 Minuten erloschen und der Tod trat in 73 und 119 Minuten ein. Auch hier war die Atmung schließlich bei einem Tier auf 32, beim anderen auf 20 pro Minute abgesunken und setzte, nachdem Reflexlosigkeit eingetreten war, wiederholt sekundenlang aus. Bei der größeren Gabe von 3 ccm (0,18 g pro Liter) wurde, wie beim Petroläther, eine rasch verlaufende Vergiftung (Nr. 197) mit tödlichem Streckkrampf ohne Narkose beobachtet. Als narkotisch ebenso wirksam, aber durch Jodspuren giftiger, erwies sich das Hexan aus Propyljodid. In 2 Versuchen mit 2,2 ccm trat hier der Tod in 39 und 45 Minuten ein.

Tabelle VII.

Versuche mit Heptan.

Nr.	Gewicht g	Pro Flasche ccm	Pro Liter g	Seitenlage nach Min.	Reflexlosigkeit nach Min.	Aus der Flasche genommen nach Min.	Verlauf
5	Maus 17	0,8	0,052	—	—	130	Erholung
3	„ 15	0,8	0,052	99	—	106	„
62	„ 19	0,8	0,051	51	—	89	„
180	„ 17	0,9	0,058	58	85	340	„
181	„ 12	0,9	0,059	—	—	—	† nach 41 Min. (Krampf)
182	„ 14	1,0	0,065	42	75	173	Erholung
11	„ 17	1,0	0,064	41	41 f. r.	43	„
2	„ 12	1,0	0,064	22	37 f. r.	39	„
1	„ 18	1,0	0,065	—	—	—	† nach 29 Min. (Krampf)
4	„ 20	1,2	0,078	—	—	—	† nach 15 Min. (Krampf)
58	Ratte 155	0,8	0,052	—	—	151	Erholung
59	„ 90	1,0	0,064	—	—	—	† nach 84 Min.

Besonders eigentümlich verliefen die Versuche mit Heptan. Schon beim ersten nicht in der Tabelle VII aufgezeichneten Vorversuch mit 1 ccm Substanz trat nach etwa 15 Minuten bei fast reflexloser Narkose und frequenter Atmung unter plötzlicher Atmungsbeschleunigung ein Streckkrampf auf mit dauerndem Atmungsstillstand; diese Erscheinung bei z. T. weniger tiefer Narkose wurde unter 8 Versuchen mit Mengen von 0,9 bis 1,2 ccm (0,06—0,08 g pro Liter) 4 mal gesehen. Sie erinnert an die Fälle mit großen Dosen Petroläther und Hexan. War bei

diesen Überdosierung des Narkoticums z. T. Veranlassung des raschen Todes, so kann dies beim Heptan kaum der Fall sein. Die Gaben, die hier bei einzelnen Tieren rasch zum Tode führten, wurden von anderen besonders lange ertragen. Neben der Gefährlichkeit für manche Versuchstiere erwies sich das Heptan für andere weniger schädlich zu langdauernder reflexloser Narkose als Benzin und die bisher besprochenen Kohlenwasserstoffe. Dies zeigen übereinstimmend die Versuche Nr. 180 und 182. Bei letzterem wurde Narkose durch 1 ccm (0,065 g pro Liter) der Substanz hervorgerufen. Es wurde nach $1^1/_4$ Stunden Reflexlosigkeit erreicht und der Versuch fast 3 Stunden lang ausgedehnt. Als die Reflexe vollkommen erloschen waren, betrug die Atemfrequenz noch 80 pro Minute. Dabei war die Atmung ruhig und regelmäßig und das Tier zeigte keine Cyanose. Im Verlauf der nächsten Stunde sank die Atmung langsam auf 40 pro Minute und betrug, als das Tier nach fast 3stündiger Versuchsdauer aus der Flasche genommen wurde, etwa 30 pro Minute. 25 Minuten später war sie wieder auf 118 pro Minute angestiegen und das vorher vollkommen reflexlose Tier suchte sich wieder aufzurichten. Ähnlich verlief der Versuch Nr. 180 mit 0,9 ccm (0,06 g pro Liter) Heptan. Bei dem Tier war nach 85 Minuten Reflexlosigkeit vorhanden; die Atemfrequenz betrug gleichzeitig 90 pro Minute. Die Maus blieb im ganzen fast 6 Stunden in der Flasche und hatte vor der Herausnahme nur noch 20 Atemzüge pro Minute. Die Reflexlosigkeit blieb noch über eine Stunde bestehen. Nach 2 Stunden waren leichte Reflexe zu bemerken und nach 3 Stunden versuchte das Tier sich aufzurichten. Am anderen Tag war es vollkommen erholt. Dieser Versuch gewinnt noch dadurch an Bedeutung, daß das gleichzeitig beobachtete Parallеltier (Nr. 181), bei dem unter genau denselben Bedingungen in einer zweiten Flasche dieselbe Dose gegeben wurde, nach 41 Minuten einen Streckkrampf bekam und sich nicht wieder erholte. Die Atemfrequenz betrug einige Minuten vor dem Tode etwa 120 pro Minute. Reflexlosigkeit war nicht eingetreten; das Tier ertrug noch nicht einmal Seitenlage.

Während vom Heptan 0,9 ccm (0,06 g pro Liter), wenn auch erst spät, reflexlose tiefe Narkose bewirken, ist 0,8 ccm (0,05 g pro Liter) nur wenig narkotisch wirksam. Ein Tier (Nr. 5) wurde in der Flasche der Reihe nach zwar erst erregt, dann schläfrig;

zeigte verlangsamte Atmung, unsichere Bewegungen und abgeschwächte Reflexe, ertrug aber innerhalb 2 Stunden Seitenlage nicht, während ein anderes (Nr. 3) in 99 Minuten wenigstens dieses Stadium erreichte.

Tabelle VIII.

Versuche mit Octan.

Nr.	Gewicht g	Pro Flasche ccm	Pro Liter g	Seitenlage nach Min.	Reflexlosigkeit nach Min.	Aus der Flasche genommen nach Min.	Verlauf
10	Maus 14	0,4	0,025	—	—	180	Erholung
6	„ 20	0,5	0.031	—	—	48	„
39	„ 15	0,5	0,031	87	—	97	„
8	„ 17	0,6	0,037	71	—	73	„
158	„ 17	0,7	0,045	95	—	135	„
7	„ 17	0,7	0,044	50	25 f. r.	52	„
161	„ 20	0,7	0,044	40	40 f. r.	55	„
9	„ 19	0,8	0,051	33	—	33	„
165	„ 18	1,0	0,064	43	43 f. r.	46	„
159	„ 19	1,0	0,064	40	40 f. r.	45	„
14	„ 18	1,0	0,063	29	29 f. r.	33	„
187	„ 13	1,0	0,063	30	58	185	† nach 24 Stunden

Erscheint demnach das Heptan für einzelne Versuchstiere in narkotischen Dosen gefährlich, während es von anderen dagegen gut ertragen wird, ist die Wirkung des Octans eine gleichmäßigere. Selbst bei beträchtlicher Überdosierung wurde das Produkt von den Versuchstieren in lange dauerndem Versuche gut ertragen. Ein Todesfall wurde während der Versuche nicht beobachtet. Der hohe Siedepunkt des Octans von über 125° erschwert seine Verwendung: Auf einem Uhrglase erfolgt die Verdampfung der Substanz zu langsam, um brauchbare Werte zu ergeben, während sie in der Papiertüte für Mengen bis zu 1 ccm regelmäßig in etwa 10 Minuten gelingt.

Mengen von 0,4 ccm (0,025 g pro Liter) erwiesen sich als narkotisch unwirksam. Auch 0,5 ccm (0,031 g pro Liter) sind kaum wirksam und die Mäuse ertragen erst nach etwa einer Stunde Seitenlage. Regelmäßig bewirkten Mengen von 0,6 bis 0,7 ccm (etwa 0,04 g pro Liter) in nicht zu langer Zeit, Narkose. Die Reflexerregbarkeit wird bei diesen und höheren Dosen verhältnismäßig früh stark beeinträchtigt, so daß zur Zeit, wo die Tiere Seitenlage ertragen, auch die Reflexe fast vollständig auf-

gehoben sind. Die hohe Dose von 1 ccm (0,06 g pro Liter) wurde von den Tieren regelmäßig gut ertragen. Vorübergehende krampfhafte Zuckungen wurden zwar auch beim Octan gesehen, jedoch ohne daß diese zum Tode geführt hätten. Bei einem Versuche, die Zeit des Todes in der letztgenannten Octankonzentration zu bestimmen (Nr. 187) nahm die Atmung des Tieres innerhalb 3 Stunden bis zu 14 Atemzügen pro Minute ab. Aus der Flasche genommen ging die Maus in der darauffolgenden Nacht ein, vielleicht weil sie nicht genügend warm gehalten wurde.

Die neben den Mäusen in den Versuchen geprüften weißen Ratten verhielten sich qualitativ gegenüber den verschiedenen Substanzen den Mäusen gleich. Quantitativ erwiesen sie sich, namentlich bei Bestimmung der Zeit des Todeseintritts, als weniger empfindlich. Ob diese Beobachtung auf eine größere natürliche Resistenz der Ratten gegenüber den Narkoticis zurückzuführen ist, oder ob die größeren Versuchstiere mehr Narkoticumdampf absorbierten und so dessen Anfangskonzentration stärker als die Mäuse verminderten, wurde nicht untersucht.

Außer im Inhalationsversuch wurden alle genannten Substanzen vergleichend auch subcutan an Mäusen geprüft. Diese Versuche wurden zum Teil gemeinsam mit Herrn Dr. Graffstein angestellt und sind in dessen Dissertation[1]) wiedergegeben. Sie sollen später an anderer Stelle ausführlicher veröffentlicht werden. Hier sei nur soviel mitgeteilt, daß subcutan allein der Äther gut resorbiert wird und rasch narkotische Wirkung äußert, während Chloroform und Benzol, selbst in mehrfach tödlichen Gaben langsam resorbiert werden und erst spät Narkose bewirken. Besonders bemerkenswert erscheint aber die schlechte Resorption der Petroleumkohlenwasserstoffe, die subcutan kaum mehr narkotische Wirkungen zeigen. Pentan mit seinem Siedepunkt unterhalb Körpertemperatur bewirkt in der Menge von 0,1 ccm subcutan starke Aufblähung (Pneumoderma) und Hypnose. 0,2 ccm verursachen eine so starke Auftreibung des Versuchstieres, daß es rasch erstickt. Hexan und Heptan sind in größeren Dosen subcutan tödlich ohne Narkose. Octan ist resorptiv ungiftig: Die große Menge von 1 ccm, die, in Dampfform auf 10 Liter verteilt, eingeatmet bei Mäusen in kurzer Zeit tiefe Narkose herbeiführt, bleibt unter

[1]) Wl. Graffstein, Die subcutane Verwendung der Narkotica. Diss. Königsberg 1920.

der Haut als Depot wochenlang liegen und bewirkt schließlich Ablösung der abgestorbenen Haut.

Die schwere Resorbierbarkeit der Kohlenwasserstoffe gilt nicht nur für die Produkte in flüssiger, sondern auch in Dampfform, wie ich[1]) dies bei intraperitonealer Injektion von Pentan an Kaninchen zeigen konnte. Injiziert man einem Kaninchen von etwa 2 kg 1 ccm Äther in die Bauchhöhle, so verdampft er sofort (1 ccm = 200 ccm Dampf!); es bildet sich ein sog. Pneumoperitoneum (Pneumaskos). Bei der Betrachtung am Röntgenschirm sieht man eine beträchtliche Gasblase, die sich aber zusehends verkleinert und nach einigen Minuten verschwunden ist. Anders das Pentan: Auch dieses bläht die Bauchhöhle etwa ebenso stark auf, bleibt aber in Dampfform viel länger bestehen und ist erst nach 24 Stunden und später resorbiert.

Bemerkt sei, daß die intraperitoneale Pentaninjektion am Kaninchen keine Peritonitis hervorruft. Flüssiges Pentan bewirkt an der menschlichen Zunge oder ins Auge getropft, keine Reizung, im Gegensatz zu Äther und Chloroform. Trotzdem bewirken auch Pentan, Hexan und Heptan Gewebsschädigungen an der empfindlichen Haut der weißen Maus bei subcutaner Injektion wie das Octan, jedoch in geringerem Maße als Äther und Chloroform.

Die geringere Protoplasmagiftwirkung der aliphatischen Grenzkohlenwasserstoffe gegenüber Benzol, Chloroform und Äther kommt auch in ihrem hämolytischen Verhalten zum Ausdruck. Wie Chloroform und Äther wirkt auch das Benzol bei Zimmertemperatur stark hämolytisch für Rinderbluterythrocyten, während die Petroleumbestandteile sich als kaum wirksam erwiesen mit Ausnahme des Heptans. Diese Ausnahmestellung des Heptans, der wir später in seinem capillaren Verhalten wieder begegnen, dürfte auf Verunreinigungen zurückzuführen sein.

Schließlich seien hier noch Versuche erwähnt über die Wirkung der Narkotica am isolierten Froschherzen, welche in dieser Zeitschrift demnächst ausführlicher veröffentlicht werden sollen. Herzstillstand bewirken in gleicher Weise wässerige Lösungen von etwa 2 Gewichtsprozenten Äther, 0,09 Gewichtsprozenten Chloroform und 0,09 Gewichtsprozenten Benzol,

[1]) H. Fühner, Dtsch. med. Wochenschr. 1921.

während gesättigte wässerige Lösungen der aliphatischen Kohlenwasserstoffe wirkungslos sind. Herzstillstand kann auch durch Einwirkung von Ätherdampf leicht und rasch herbeigeführt werden, während Pentandampf, selbst bei längerer Einwirkung, nur Abschwächung der Herzpulse hervorbringt.

Versuchsbesprechung.

Vergleicht man die mit Äther und Chloroform hinsichtlich ihrer narkotischen Wirkungsstärke erhaltenen Versuchsergebnisse mit denen anderer Verfasser[1]) an anderen Tieren, so ergibt sich gute Übereinstimmung. Auch an der weißen Maus erscheint das Chloroform nach Gewichtsprozenten etwa 3 mal wirksamer als der Äther.

Die Benzolwirkung unterscheidet sich an der weißen Maus weitgehend von der des Benzins. Für die weiße Maus ist das Benzol zunächst ein recht starkes Narkoticum, nach Gewichtsprozenten etwa so stark wie das Chloroform. Daneben aber charakterisiert sich die Benzolvergiftung durch eigentümliche Zitterbewegungen des Versuchstieres, welche an die Phenolwirkung erinnern und das Benzol als aromatisches Produkt kennzeichnen. Neben den Zitterbewegungen tritt, wie dies Straub[2]) für die Morphinvergiftung der Maus beschrieben hat, eine starre Haltung des Schwanzes auf, beides Erscheinungen, die bei der Wirkung des Benzins und seiner Bestandteile fehlen.

Das geprüfte Benzin mit dem Siedepunkt von 50—70° war quantitativ bedeutend weniger wirksam als das Benzol und zwar in Gewichtsprozenten berechnet etwa 4 mal weniger, ein Wirkungsverhältnis, wie es ähnlich auch Lehmann[3]) in seinen Versuchen an größeren Wirbeltieren fand. Wenn das Leichtbenzin auch nicht die stark erregende Wirkung des Benzols besitzt, so kommt doch an der weißen Maus Narkose ohne vorherige bedeutende Erregungserscheinungen fast nie zustande. Darin unterscheidet sich das Petroleumbenzin von Chloroform und

---

[1]) Vgl. W. Ritschel und O. Stange, Arch. internat. de Pharmacodyn. et de thérap. 23, 191. 1913. — H. Winterstein, Die Narkose. S. 32. Berlin 1919.

[2]) W. Straub vgl. H. Fühner, Nachweis und Bestimmung von Giften auf biologischem Wege. S. 150. Berlin, Wien 1911.

[3]) K. B. Lehmann, l. c. S. 107.

Äther, bei denen ein Exzitationsstadium an der Maus zwar zu sehen ist, aber nur ausnahmsweise in der Stärke wie beim Benzin. Unter zunehmender Beschleunigung der Atmung kann die Erregung sich bis zu Krämpfen steigern, auf die dann Verlangsamung der Atmung folgt oder in denen das Tier eingeht. Atmungsverlangsamung und vorübergehendes Aussetzen der Atmung zu einer Zeit, wo die Reflexe noch längst nicht erloschen sind, also frühzeitige Beeinträchtigung des Atmungszentrums, gehört zu den regelmäßigen Erscheinungen der Benzinvergiftung an der weißen Maus. So erweist sich das niedrig siedende Benzin mit seiner zum Teil zentral erregenden und früh die Atmung schädigenden Wirkung als kein brauchbares Narkoticum für diese Tiere und wohl wegen derselben Nebenwirkungen dürfte es sich früher als unbrauchbar zu tieferen Narkosen am Menschen erwiesen haben. Besonders bemerkenswert sind plötzliche Todesfälle, die ohne vorbereitende Krämpfe und bei frequenter Atmung eintreten können, ohne daß die Versuchstiere vorher auch nur Seitenlage ertragen hätten. Sie bekommen überraschend einen Streckkrampf, nach dem die Atmung spontan nicht wiederkehrt, während andere Mäuse bei demselben Gehalt der Luft an Benzindampf nach vorübergehender Erregung eine ruhige reflexlose Narkose zeigen, bei der die Atemfrequenz nur langsam abnimmt. Derartige individuelle Verschiedenheiten der Mäuse habe ich gegenüber Äther und Chloroform nicht gesehen. Sie scheinen aber für das Benzin und, wie weiter unten gezeigt wird, auch für die reinen Petroleumfraktionen charakteristisch zu sein und erklären sich wohl so, daß bei manchen Tieren die erregende Wirkung derart überwiegt, daß die narkotische Wirkung daneben nicht hervortritt. Es fragt sich, inwieweit die reinen Kohlenwasserstoffe sich im übrigen besser als der Petroläther des Handels zu Narkosezwecken eignen.

Das gebrauchte Benzin bestand in der Hauptsache aus Pentan und Hexan. Die beiden untersuchten aus Petroleum isolierten Substanzen stimmen in ihrer Wirkung weitgehend mit dem Benzin überein, nur daß ihre erregende Wirkung etwas weniger ausgeprägt ist. Immerhin können sie bei schwacher narkotischer Wirkung Krämpfe hervorrufen. Sie beeinträchtigen früh die Atmung und der Tod kann bei frequenter Atmung plötzlich eintreten. Das aus Propyljodid synthetisch hergestellte Hexan

zeigt als Narkoticum keine besseren Eigenschaften als das Petroleumprodukt. Geringe Verunreinigung durch jodierte Substanzen mag seine lähmende Wirkung gegenüber letzterem etwas verstärkt haben, was sich in leichterem Eintritt von Reflexlosigkeit und Tod äußert. Da sie im Charakter durchaus der Wirkung des Petroleumproduktes und diese der Wirkung des Benzins entspricht, so ist auch die geschilderte Benzinwirkung nicht auf etwaige Verunreinigungen zurückzuführen, sondern kommt offenbar den Kohlenwasserstoffen als solchen zu.

Die bei Benzin, Pentan und Hexan ausnahmsweise beobachteten plötzlichen Todesfälle im Streckkrampf ohne vorhergehende Reflexlosigkeit wurden beim Heptan wiederholt gesehen. Da das Heptan, wie sich aus den Hämolyse- und Stalagmometerversuchen ergiebt, sicherlich verunreinigt ist, so könnte diese Wirkung auf die Verunreinigungen zurückzuführen sein. Ließe sie sich durch Reinigung des Produktes beseitigen, so wäre das Heptan unter Umständen als Narkoticum brauchbar. Wenn auch ihm, ebensowenig wie den anderen Kohlenwasserstoffen, erregende Anfangswirkungen fehlen, so ist doch bemerkenswert, daß einzelne Versuchstiere mehrere Stunden lange reflexlose Narkose durch Heptan mit weitem Abfall der Atemfrequenz ertrugen und sich nachher vollkommen erholten. Nach ebenso langer und weniger tiefer Chloroformnarkose wären sie sicherlich nachträglich eingegangen.

Die sekundäre Schädigung der Chloroformnarkose, die wohl auf chemische Veränderung seines Moleküls (Phosgen, Salzsäure) im Organismus zurückzuführen ist, fehlt, wie durch Sektion bestätigt wurde, den Kohlenwasserstoffen, wahrscheinlich wegen ihrer chemischen Beständigkeit, ihrer Indifferenz. Dies bedeutet sicherlich einen Vorzug dieser Substanzen als Narkotica gegenüber den leicht zersetzlichen Produkten wie Chloroform und Äther. Sind die Kohlenwasserstoffe auch für sich allein, in erster Linie wegen ihrer zentral erregenden Wirkung, als Narkotica unbrauchbar, so könnte doch ihre kombinierte Verwendung, namentlich mit Chloroform, vorteilhaft sein.

Aus der Prüfung der narkotischen Wirkung des synthetischen Octans verdient das Fehlen plötzlicher Todesfälle hervorgehoben zu werden, die übrigens beim synthetischen Hexan auch nicht gesehen wurden und die, wie beim Heptan erwähnt, vielleicht

doch durch besondere Verunreinigungen bedingt sind. Im übrigen verläuft auch die Narkose durch synthetisches Octan wie durch Benzin mit oft starkem Erregungsstadium und Beeinträchtigung der Atmung. Auffällig ist beim Octan gegenüber dem Heptan mit seinen wechselnden Ergebnissen, daß verhältnismäßig leicht und regelmäßig nahezu reflexlose Narkose eintritt, ähnlich wie beim synthetischen Hexan, was auch hier durch geringe, dem Octan von der Darstellung her anhaftende Reste jodierter Produkte verursacht sein könnte.

Verglichen mit dem fast bei gleicher Temperatur siedenden Äther ist das *Pentan* ein schwaches Narkoticum. Zur Narkose sind etwa die 4fachen Gewichtsmengen nötig wie vom Äther. Ähnlich ist der Wirkungsunterschied zwischen *Hexan* und Chloroform oder Benzol, die sich wiederum in ihren Siedepunkten nahestehen. Auch hier ist von dem aliphatischen Kohlenwasserstoff etwa die 4fache Gewichtsmenge wie von den anderen beiden unter sich etwa gleichstarken Substanzen nötig. Das aromatische Benzol ist jedenfalls viel stärker narkotisch wirksam als das aliphatische Hexan mit derselben Anzahl Kohlenstoffatome.

Der genaueren *Vergleichung der narkotischen Wirkungsstärke* aller geprüften Substanzen dient die Zusammenstellung der Tabelle IX.

Tabelle IX.

Isonarkotische Mengen.

	Molekulargewicht	Pro Flasche ccm	Pro Liter g	Pro Liter Molen	Quotient
Pentan	72	7,0	0,377	0,0052	
Hexan	86	2,4	0,147	0,0017	3,1
Heptan	100	1,0	0,064	0,00064	2,8
Octan	114	0,6	0,037	0,00032	2,0
Äther	74	1,5	0,092	0,0012	—
Benzol	78	0,5	0,038	0,00049	—
Chloroform	119	0,3	0,038	0,00032	—

Unter sich vergleichbar sind die Produkte nur in molaren Verhältnissen. In Molen pro Liter Luft berechnet ist der für Hexan gefundene Wert (0,0017) derselben Größenordnung wie der des Äthers (0,0012), während Heptan (0,00064) sich mit Benzol (0,00049) messen kann und der für Octan berechnete Wert (0,00032) vollständig mit dem des Chloroforms übereinstimmt.

Zu den für die Tabelle IX ausgewählten und berechneten Werten ist folgendes zu bemerken: Die Mengen von Äther (1,5 ccm pro Flasche), Chloroform (0,3 ccm pro Flasche) und Benzol (0,5 ccm pro Flasche) entsprechen sich insofern, als durch sie leichte Narkose der Mäuse in etwa 10 Minuten herbeigeführt wird. Als vergleichbar hiermit wurde für das Pentan die Menge von 7 ccm pro Flasche gewählt, die auch innerhalb 10 Minuten leichte Narkose bewirken kann. Dagegen tritt der gleiche Grad der Narkose durch 2,4 ccm Hexan in etwa 15 Minuten, durch 1 ccm Heptan in etwa 30 Minuten und durch 0,6 ccm Octan in etwa 70 Minuten ein. Wegen des niedrigen Dampfdruckes und der dadurch bedingten langsameren Verdampfung der höheren Kohlenwasserstoffe, sowie wegen ihrer sicherlich auch bei der Einatmung in Dampfform langsameren Resorption von der Lunge aus, wie sie sich bei subcutaner Injektion der Flüssigkeiten feststellen läßt, hielt ich es für richtig, hier Werte zu vergleichen mit den verschiedenen längeren Wirkungszeiten. Entsprechend der langsamen Resorption in Dampfform, wie ich sie bei intraperitonealer Injektion von Pentan gegenüber dem Äther an Kaninchen gesehen habe, könnte auch schon für dieses eine erst später wirksame etwas niedrigere Konzentration (vielleicht 6,5 ccm) eingesetzt werden, und dann ein niedrigerer Wert, etwa 2,2 ccm für das Hexan.

Wie in anderen homologen Reihen steigt auch in der der aliphatischen Grenzkohlenwasserstoffe die Wirkungsstärke an mit dem Molekulargewicht. Es frug sich, ob auch hier jedes nächsthöhere Glied 3 mal wirksamer ist als das vorhergehende, wie ich[1]) dies 1904 für die entwicklungshemmende Wirkung der einwertigen normal-primären Alkohole an Seeigeleiern feststellte, wobei ich zugleich zeigen konnte, daß sich der Quotient 3 auch aus den narkotischen Werten von Overton[2]) an Kaulquappen berechnen läßt. Ich fand dieses Wirkungsverhältnis zusammen mit Neubauer[3]) wieder bei der hämolytischen Wirkung der Alkohole, Essigester und Urethane und später[4]) bei der narko-

---

[1]) H. Fühner, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **52**, 71. 1904.

[2]) E. Overton, Studien über die Narkose. S. 101. Jena 1901.

[3]) H. Fühner und E. Neubauer, Zentralbl. f. Physiol. **20**, 117. 1906; Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **56**, 333. 1907.

[4]) H. Fühner, Zeitschr. f. Biol. **57**, 465. 1912.

tischen Wirkung der Alkohole an zahlreichen Wassertieren. Bei letzteren Versuchen ergaben sich allerdings Abweichungen für höher organisierte Tiere gegenüber niederen: Bei höheren Tieren stieg der Quotient bis 4 und darüber an, während er sich bei niederen der Zahl 3 näherte.

Berechnet man den Quotienten aus den molaren Werten für Pentan und Hexan, so ergibt sich, wie aus Tabelle IX ersichtlich ist, $\frac{\text{Pentan}}{\text{Hexan}} = \frac{0{,}0052}{0{,}0017} = 3{,}1$; für das Verhältnis $\frac{\text{Hexan}}{\text{Heptan}} = \frac{0{,}0017}{0{,}00064} = 2{,}8$; für $\frac{\text{Heptan}}{\text{Octan}} = \frac{0{,}00064}{0{,}00032} = 2{,}0$. Stimmen die gefundenen Werte sehr gut auf den Quotienten 3 bei den 3 ersten Substanzen, so fällt dieser bis zu 2 ab beim Verhältnis Heptan : Octan. Ob dies an einer geringeren Wirksamkeit des synthetischen Octans liegt als dem Petroleumprodukt zukommen würde oder durch andere Umstände, vielleicht die abnehmende Resorption in der Reihe der Kohlenwasserstoffe, bedingt ist, habe ich nicht weiter verfolgt. Wesentlich erscheint mir, festzustellen, daß der Quotient hier bei Prüfung der narkotischen Wirkungsstärke der Kohlenwasserstoffe an Mäusen sich sicherlich nicht der Zahl 4 nähert, wie ich es früher bei den höheren Wassertieren fand, sondern dem bekannten Quotienten 3 aus Traubes Capillaritätsgesetz[1]).

Wie bei den früher geprüften homologen Reihen war zu erwarten, daß auch bei diesen Kohlenwasserstoffen die narkotische Wirkungsstärke der Capillaraktivität parallel gehen würde, d. h. daß nach Traube[2]) die Oberflächenaktivität der wässerigen Lösungen im Verhältnis $1 : 3 : 3^2 : 3^3 \ldots$ zunehmen würde. Prüfungen, die ich in dieser Richtung mit Traubes Stalagmometer vornahm, hatten negative Resultate. In meinem Stalagmometer geben gesättigte wässerige Lösungen von Pentan, Hexan und Octan dieselbe Tropfenzahl wie Wasser (= 39). Heptan gibt allein eine geringe Tropfenvermehrung, die, wie oben erwähnt, für eine Verunreinigung des Präparates spricht.

Es ist jedenfalls bemerkenswert, daß es nach diesen Versuchen Substanzen gibt, bei denen zwar das von mir aufgefundene Gesetz der narkotischen Wirkungsstärke in homologen

---

1) Vgl. H. Winterstein, Die Narkose. S. 236. Berlin 1919.

2) J. Traube, Arch. f. d. ges. Physiol. 105, 541. 1904.

Reihen gilt, nicht aber das Traubesche Capillaritätsgesetz, daß es Produkte gibt, die stark narkotisch wirksam sind, ohne capillaraktiv zu sein. Bei weiterer Prüfung fand ich, daß letzteres übrigens auch für die vergleichend geprüften Narkotica Chloroform und Benzol zutrifft: Auch ihre gesättigten wässerigen Lösungen sind kaum capillaraktiv, während allein von allen in dieser Arbeit untersuchten Produkten der Äther stark capillaraktiv ist und zwar noch in Verdünnungen, die den unwirksamen Chloroformlösungen äquimolekular sind. Der verhältnismäßig schwach narkotisch wirksame Äther ist in seinen wässerigen Lösungen stark capillaraktiv; das narkotisch viel stärker wirksame Chloroform ist praktisch capillarinaktiv. Der Versuch von Traube[1]), die fehlende Capillaraktivität der wässerigen Lösungen des Chloroforms und der Kohlenwasserstoffe durch ihre Flüchtigkeit oder den hohen Dampfdruck zu erklären, muß als mißlungen bezeichnet werden angesichts der Werte, die der Äther ergibt, der ja viel flüchtiger ist und einen viel höheren Dampfdruck besitzt als das Chloroform.

Capillaraktivität und narkotische Wirkungsstärke gehen einander also durchaus nicht parallel, eine Behauptung, die ich in meiner später erscheinenden Arbeit über die Wirkungsstärke der Narkotica am Froschherzen weiter begründen werde.

Ist es mir nicht gelungen, bei Prüfung der Oberflächenspannung der wässerigen Lösungen der Kohlenwasserstoffe den Quotienten 3 zu erhalten, so fand ich ihn überraschenderweise wieder bei der Bestimmung der Wasserlöslichkeit der Substanzen. Wie aus der Tabelle X ersichtlich, nimmt die Wasserlöslichkeit von Pentan : Hexan : Heptan : Octan im Verhältnis $1 : 3 : 3^2 \ldots$ ab. Wurde der Quotient 3 zwischen Pentan, Hexan und Heptan nahezu genau erhalten, so zeigt sich eine Abweichung zwischen Heptan und Octan. Der hier gefundene Quotient 4 erklärt sich ohne weiteres als Versuchsfehler, entstanden bei der Abmessung des Octans. Die abgemessene Menge von 0,02 ccm ist zu niedrig. Die Menge von 0,028 ccm würde den Quotienten 3 ergeben. Doch erlaubte die angewandte 1 ccm-Pipette keine derart genauen Messungen.

---

[1]) J. Traube, ebenda **153**, 307. 1913; diese Zeitschr. **54**, 320. 1913; Internat. Zeitschr. f. physikal.-chemische Biol. **1**, 281. 1914.

Tabelle X.

Wasserlöslichkeit.

	Molekulargewicht	Pro Liter ccm	Pro Liter g	Pro Liter Molen	Quotient
Pentan	72	0,6	0,3622	0,00503	
Hexan	86	0,2	0,1384	0,00161	3,12
Heptan	100	0,07	0,0515	0,00052	3,09
Octan	114	0,02	0,0143	0,00013	4,00
Äther	74	90,0	64,80	0,875	—
Benzol	78	1,6	1,397	0,0179	—
Chloroform	119	5,0	7,261	0,0610	—

Wie Traube (1904) zeigte, bestehen innige Beziehungen zwischen Wasserlöslichkeit bzw. Lösungstension und Capillaraktivität. Während aber letztere hier als proportionales Maß der narkotischen Wirkungsstärke versagte, geht erstere ihr parallel. Inwieweit dies auch für andere Produkte der Fall ist, soll später gezeigt werden. Daß auch die Wasserlöslichkeit nicht durchweg der Narkosestärke parallel verläuft, zeigen schon die 3 in der Tabelle X mit aufgenommenen Vergleichungsprodukte, welche sich bei z. T. gleichstarker narkotischer Wirkung in molaren Mengen viel reichlicher in Wasser lösen als die Kohlenwasserstoffe.

Entsprechendes dürfte auch für die Teilungskoeffizienten gelten zwischen Öl und Wasser. Wohl auch diese werden, da die Kohlenwasserstoffe sich mit fetten Ölen in jedem Verhältnis mischen, der Wasserlöslichkeit parallel gehen, so daß voraussichtlich Teilungskoeffizient und Wasserlöslichkeitsverhältnis in gleicher Weise als proportionales Maß der Wirkungsstärke in Betracht kommen. Versuche zu direkter Bestimmung der Teilungskoeffizienten der Kohlenwasserstoffe zwischen Öl und Wasser schlugen bei der minimalen Wasserlöslichkeit und der starken Emulsionsbildung fehl. Die geringe Wasserlöslichkeit der Kohlenwasserstoffe dürfte zur Folge haben, daß die Teilungskoeffizienten zwischen Öl und Wasser sehr viel höher bei ihnen ausfallen als bei den stärkeren Vergleichungsnarkoticis Chloroform, Äther und Benzol, so daß diese Teilungskoeffizienten der narkotischen Wirkung kaum parallel gehen. Dabei darf aber nicht vergessen werden, daß Teilungskoeffizienten zwischen Öl und Wasser keinen genauen vergleichenden Maßstab abgeben können für die

Verteilungsverhältnisse der Narkotica im Organismus zwischen Blut und Zentralnervensystem. Die Löslichkeit der Narkotica in fetten Ölen ist sicherlich eine vielfach andere als in den Gehirnlipoiden. Erst wenn die Teilungsverhältnisse zwischen letzteren und Wasser bestimmt sind, wird sich abschließend beurteilen lassen, inwieweit die Meyer-Overtonsche Theorie der Narkose als Theorie der narkotischen Wirkungsstärke unzureichend ist.

Zusammenfassung.

In einer luftdicht verschlossenen „Narkoseflasche" wurden Mäuse und Ratten durch darin verdampfte abgemessene Mengen von Petroleumbenzin und seinen Bestandteilen, den normalen Grenzkohlenwasserstoffen Pentan, Hexan, Heptan und Octan narkotisiert. Zur Vergleichung dienten Äther, Benzol und Chloroform.

Im Gegensatz zu Äther und Chloroform bewirkt das Benzin und ebenso seine 4 rein dargestellten Fraktionen, in narkotischen Konzentrationen der Einatmungsluft zugesetzt, häufig erst starke Erregungserscheinungen neben frühzeitiger Beeinträchtigung der Atmung. Noch stärker als bei den aliphatischen Kohlenwasserstoffen ist die erregende Wirkung beim Benzol ausgeprägt.

In molaren Mengen eingeatmet wirkt das Benzol an Mäusen nur wenig, der Äther 4 mal schwächer narkotisch als Chloroform. Einander nahe stehen in ihrer Wirkungsstärke Hexan und Äther, Heptan und Benzol, Octan und Chloroform.

Bei den Gliedern der homologen Reihe der Kohlenwasserstoffe Pentan, Hexan, Heptan, Octan steigt die narkotische Wirkungsstärke an im Verhältnis $1:3:3^2\ldots$ Im gleichen Verhältnis nimmt die Wasserlöslichkeit der Substanzen ab. Ein entsprechendes Verhalten der Oberflächenaktivität ist nicht festzustellen. Das von mir aufgefundene Gesetz der Wirkungsstärke in homologen Reihen besteht demnach unabhängig von dem Capillaritätsgesetz Traubes.

Der toxikologische Nachweis des Cytisins.

Von

H. Fühner und E. Mertens.

(Aus dem pharmakologischen Institut der Universität Königsberg i. Pr.)

(Eingegangen am 18. Januar 1921.)

Das Alkaloid Cytisin ($C_{11}H_{14}N_2O$) steht dem Nicotin ($C_{10}H_{14}N_2$) chemisch und pharmakologisch nahe. Seine Konstitution ist, im Gegensatz zu der des Nicotins, noch nicht vollständig aufgeklärt.

Es kommt als wirksamer Bestandteil in zahlreichen Vertretern der Familie der Papilionaceen vor, besitzt aber toxikologische Bedeutung bei uns nur als Gift des überall angepflanzten Zierstrauches Cytisus Laburnum L., des Goldregens. Die schön goldgelben Blüten des Strauches, dann die Schoten und ihre Samen haben häufig schon Vergiftungen, namentlich von Kindern, veranlaßt. Nach Bestimmungen von Partheil[1]) enthalten in getrocknetem Zustande die Blütentrauben 0,18%, die Blätter 0,32%, unreife Fruchtstände 0,64% und reife Samen 1,67% Alkaloid. Tödliche Vergiftungen durch den Goldregen und seine Teile sind selten, offenbar aus dem Grunde, weil das Cytisin, entsprechend dem Nicotin, rasch Übelkeit und Erbrechen hervorruft, so daß Resorption lebensgefährlicher Mengen nicht erfolgt. Unter 155 Vergiftungen, die Falck[2]) bis 1880 in der Literatur verzeichnet fand, verliefen nur 4 = 2,6% tödlich. Das Cytisin ist im Organismus beständig und wird im Harn, Speichel und auch in der Milch ausgeschieden.

Da es sich um Pflanzenteile handelt, wird im Falle einer tödlichen Vergiftung in erster Linie eine botanisch-pharmako-

---

[1]) A. Partheil, Arch. d. Pharmazie **230**, 456. 1892.

[2]) F. A. Falck, Lehrbuch der praktischen Toxikologie. S. 210. Stuttgart 1880.

gnostische Untersuchung vorzunehmen sein. Das Urteil lediglich auf dieser Grundlage bleibt aber ein unsicheres. Das Ergebnis dieser Prüfung muß vor allem durch pharmakologische (biologische) Untersuchung bestätigt werden, denn die außerdem anzustellenden chemischen Proben besitzen keine genügende Beweiskraft und mißlingen mit geringen, dazu nicht vollkommen rein aus dem Untersuchungsmaterial dargestellten Substanzmengen leicht.

Nach Gadamer[1]) ist die beste chemische Probe zum Nachweis des Cytisins die nach van de Moer. Sie wird in der Weise angestellt, daß der neutrale Rückstand mit Eisenchlorid und Wasserstoffsuperoxyd erwärmt wird. Dabei tritt eine schöne, ziemlich beständige Blaufärbung auf, und zwar sollen nach Gadamer mit dieser Methode „bei einiger Übung" noch $^1/_{10}$ bis $^1/_{20}$ mg Cytisin nachweisbar sein. Wir konnten die Probe zwar mit solch kleinen Mengen des reinen Alkaloids, aber nicht mit aus der Pflanze selbst isoliertem, unreinem Produkt erhalten. Hier waren im Durchschnitt 1 mg und mehr nötig. Wir stimmen darum Partheil darin zu, daß „diese Reaktion nicht sehr scharf ist". Sie versagte bei unseren Pflanzenauszügen mit sicherlich größeren Alkaloidmengen wiederholt vollständig, so daß beim Mißlingen der Probe nicht auf die Abwesenheit von Cytisin geschlossen werden kann. Dagegen wird ihr positives Ergebnis die Sicherheit botanischer und pharmakologischer Diagnose erhöhen.

Der pharmakologische (biologische) Nachweis des Cytisins ist bisher noch nicht ausgearbeitet worden. In der umfangreichen pharmakologischen Untersuchung über das Cytisin von Koberts Schüler Radziwillowicz[2]) finden sich zwar Angaben über die Wirkung des Alkaloides an verschiedenen Warm- und Kaltblütern, jedoch zum Nachweis kleiner Mengen desselben sind sie nicht verwendbar. Wir haben ein Verfahren an Fröschen und Blutegeln erprobt, welches gestattet, das Cytisin mit Bestimmtheit zu erkennen und es von dem, wie früher gezeigt wurde[3]), in vieler Richtung gleichwirkenden Nicotin zu unter-

---

[1]) J. Gadamer, Lehrbuch der chemischen Toxikologie. S. 564. Göttingen 1909.

[2]) R. Radziwillowicz, Koberts Arbeiten a. d. pharmakol. Institut zu Dorpat. Bd. 2, S. 56. 1888.

[3]) H. Fühner, Ber. d. Dtsch. pharmaz. Ges. 29, 168. 1919.

scheiden, das dabei gleichzeitig eine einfache quantitative Bestimmung ermöglicht.

Zu unseren Versuchen diente das krystallinische Nitrat und Chlorhydrat des Handels (Merck, Darmstadt). Die Prüfungen mit den Reinsubstanzen wurden durch Versuche mit Blättern, Blüten, Hülsen und Samen des Goldregens bestätigt. An dieser Stelle sei lediglich das Ergebnis dieser Untersuchungen wiedergegeben, die ausführlicher in der Dissertation des einen von uns[1]) niedergelegt sind.

Auf Cytisin zu untersuchendes Material wird mit salzsaurem Alkohol heiß extrahiert, der filtrierte Auszug auf dem Wasserbade eingedampft, mit Wasser aufgenommen und 12 Stunden zur Klärung stehengelassen. Dann wird in einen Scheidetrichter filtriert, mit Natronlauge alkalisch gemacht und mit Chloroform wiederholt ausgeschüttelt. Nach den Erfahrungen von Partheil, die wir bestätigen können, geht Cytisin schlecht in Äther, dagegen reichlich in Chloroform über. Die filtrierte Chloroformausschüttelung wird zur Trockene verdampft und der Alkaloidrückstand direkt zu den Identitätsproben gebraucht.

Zur chemischen und pharmakologischen Charakterisierung des Cytisins sind mehrere Milligramme Substanz nötig, die sich aber im Falle einer tödlichen Vergiftung leicht aus den Leichenteilen gewinnen lassen werden, denn als tödliche Mengen des Cytisins kommen, selbst für Kinder, mindestens Zentigrammdosen in Betracht.

Sind als Gesamtmenge etwa 3 mg Cytisin vorhanden, so wäre zweckmäßig in der Weise vorzugehen, daß von dem Chloroformauszug ein Drittel eingedampft wird zur van de Moer-Probe und zwei Drittel zur pharmakologischen Prüfung. Bei noch geringerer Menge müßte erst die pharmakologische Prüfung mit dem gesamten Material angestellt und nach Abschluß derselben das Alkaloid nochmals aus den Versuchstieren zur chemischen Probe extrahiert werden.

Der Inhalt der Schale zur Vornahme der pharmakologischen Prüfung wird mit einigen Tropfen verdünnter Essigsäure und etwa 2 ccm Wasser versetzt und dann mit Natriumcarbonat neutral oder schwach alkalisch gemacht. Die Flüssigkeit wird

[1]) E. Mertens, Der toxikologische Nachweis des Cytisins. Diss. Königsberg 1921.

auf ein bestimmtes Volum, etwa 3 ccm, gebracht. Hiervon findet $^1/_2$—1 ccm Verwendung zur Prüfung am Blutegel, der Rest zur Prüfung am Frosch.

1. Nachweis und Bestimmung des Cytisins am Blutegelpräparat.

Der Nachweis und die quantitative Bestimmung des Cytisins am Blutegel kann genau in derselben Weise durchgeführt werden, wie früher[1]) für das Nicotin gezeigt wurde. Es wird vom Blutegel ein nervenzentrenfreies Präparat hergestellt und dieses in die auf Cytisin zu prüfende Lösung eingehängt. Ist in der Lösung Cytisin im Verhältnis 1 : 100 000 oder 1 : 200 000 enthalten, so wird sich das Präparat eines normalen Blutegels hierin langsam kontrahieren. An empfindlichen Stücken findet auch noch Zusammenziehung in 1 : 500 000 und schwächeren Lösungen statt. Die Kontraktion erfolgt, genau wie beim Nicotin, langsam und ohne Tonusschwankungen in glattem Anstieg der Kurve. Läßt man, wie beim Nicotin beschrieben, 10 Minuten einwirken und wäscht dann 3 mal je 5 Minuten mit Ringerlösung aus, so wird das Präparat in der Ringerlösung meist eine nur wenig abfallende Horizontale schreiben. Bei stillstehendem Kymographion wäscht man dann mit 3- oder 4 proz. Alkohol solange aus, bis das Präparat sich wieder auf seine ursprüngliche Länge gedehnt hat. Nach bestimmter Pause kann man dann eine neue Vergiftung mit derselben Lösung oder mit einer Cytisinlösung von bekanntem Gehalt zur Vergleichung vornehmen. Auf diese Weise läßt sich im Durchschnitt eine Menge von $^1/_{10}$ mg Cytisin, an empfindlichen Blutegelpräparaten auch noch eine geringere Menge quantitativ bestimmen. Bemerkt sei, daß das Cytisin am Blutegel zwar genau qualitativ in seiner Wirkung mit dem Nicotin übereinstimmt, quantitativ aber bedeutend schwächer wirkt. Das Wirkungsverhältnis der beiden Alkaloide, am gleichen Präparate geprüft, ist nicht immer dasselbe: Gewöhnlich wirkt Nicotin doppelt bis dreimal so stark wie Cytisin.

Eine ganze Anzahl anderer Alkaloide mit tertiär gebundenem Stickstoff, die also wie das Cytisin aus alkalischer Lösung ausschüttelbar sind, besitzen am Blutegelpräparat eine Wirkung, die der von Cytisin und Nicotin nahesteht. Etwa 10 mal schwächer als Nicotin wirkt Lobelin, das in Form des Sulfates (Merck)

---

[1]) H. Fühner, Nachweis und Bestimmung von Giften auf biologischem Wege. S. 46 u. ff., Berlin, Wien 1911; diese Zeitschr. 92, 355. 1918.

in einem aus Blättern und einem aus Samen hergestellten Präparate geprüft wurde. Beide erwiesen sich als ungefähr gleichstark. Die Lobelinkurve ist der Nicotin- und Cytisinkurve sehr ähnlich. Wie diese beiden Alkaloide wäscht sich auch das Lobelin nur schlecht mit Ringerlösung aus. Leicht mit Ringerlösung wäscht sich dagegen das bromwasserstoffsaure Arecolin (Merck) am Blutegelpräparat aus. Es wirkt im Durchschnitt 20 mal schwächer als Nicotin. Sehr schwach wirksam sind Pilocarpin und Coniin in Form ihrer salzsauren Salze. Ihre kontrahierende Wirkung am Blutegel ist mehr als 100 mal geringer wie die des Nicotins und als ganz unwirksam in der Verdünnung 1 : 5000 erwies sich das Spartein, als Sulfat angewandt.

Einen glatten Kurvenanstieg wie Cytisin, Nicotin und die genannten tertiären Alkaloide geben noch die Alkaloide mit quartär gebundenem Stickstoff, Cholin und seine Derivate Cholinmuskarin (Nitrosocholin) und Acetylcholin. Eine Verwechslung mit ihnen bei der toxikologischen Analyse ist ausgeschlossen, da sie als starke quartäre Ammoniumbasen aus alkalischer Lösung nicht ausschüttelbar sind. Da aber in den Cytisussamen nach Partheil Cholin vorkommt und die Substanzen am Blutegel ähnlich den genannten Alkaloiden wirken, sei hier auf sie hingewiesen. Kurven ihrer Wirkung wurden früher an anderer Stelle[1]) abgebildet. Cholin und Acetylcholin sind am Blutegel schwach wirksam, dagegen sehr stark das Cholinmuskarin. Alle 3 waschen sich viel leichter mit Ringerlösung am Blutegel aus als Nicotin und Cytisin.

Aus dem Gesagten ergibt sich, daß die Probe am Blutegel allein noch nicht die Gegenwart von Cytisin beweisen kann. Sind keine die Cytisin- und Nicotinwirkung hemmenden Substanzen vorhanden, wie etwa Strychnin oder Curarin, so zeigt der negative Ausfall der Prüfung die Abwesenheit selbst kleiner Cytisinmengen an. Bei positivem Ausfall der Probe muß zur weiteren Charakterisierung des Alkaloides, namentlich gegenüber dem Nicotin, der Versuch am Frosch angestellt werden.

2. Der Nachweis des Cytisins am Frosch.

Injiziert man einem kleinen Wasserfrosch (30 g) etwa $^1/_2$ mg salzsaures Nicotin in den Brustlymphsack, so zieht er in eigen-

[1]) H. Fühner, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 82, 51. 1917.

tümlicher Weise die Beine über dem Rücken empor, eine Wirkung, die sich besonders gut zum Nachweis des Nicotins eignet und früher[1]) ausführlich beschrieben wurde. Es ist uns kein anderes Alkaloid bekannt, das dieselbe Wirkung wie das Nicotin zeigt. Wie uns zahlreiche Versuche gelehrt haben, fehlt sie auch dem Cytisin, so daß die Probe zur Differentialdiagnose zwischen Cytisin und Nicotin dienen kann. Immerhin finden sich an manchen Fröschen, namentlich Grasfröschen, Andeutungen eines nicotinartigen Verhaltens unter Cytisineinwirkung, und deshalb empfiehlt es sich, bei der Prüfung auf Cytisin zugleich Frösche mit reinem Cytisin und Nicotin zur Kontrolle zu injizieren. Abgesehen von dieser Anfangswirkung, die rasch vorübergeht, unterscheiden sich aber beide Gifte bedeutend im weiteren Verlauf der Wirkung am Frosch. Während das Verhalten der Atmung durch Nicotin und Cytisin gleichartig ist, insofern diese durch beide Gifte rasch ausgeschaltet wird, entwickelt sich dann durch Cytisin nach $^1/_2$—1 Stunde curarinartige Lähmung, die dem Nicotin, selbst in Gaben von mehreren Milligrammen, vollkommen fehlt. Bei mittleren und größeren Nicotindosen ($^1/_2$—2 mg) zeigt sich eine eigentümliche Steifheit und Unbeweglichkeit der Frösche, die auch beim Cytisin in geringerem Grade vorhanden ist. Tritt allmählich wieder Erschlaffung ein, so erholen sich die Frösche von der Nicotinwirkung rasch, während die Tiere schon durch $^1/_2$ und 1 mg Cytisin dauernd Rückenlage ertragen. Legt man einen N. ischiadicus frei, so ist die elektrische Reizung mehr oder weniger erfolglos, während die Beinmuskeln auf direkte Reizung gut ansprechen, eine Curarinwirkung, die je nach der Dose 12 bis 24 Stunden andauert. Nach dieser Zeit erholen sich kleine Frösche von der Wirkung von Cytisinnitrat bis zu einem Milligramm regelmäßig wieder, während Sommerfrösche nach 2 mg leicht eingehen. Während dem Nicotin, selbst in größeren Gaben, diese lähmende Wirkung vollständig fehlt, findet sie sich von den genannten tertiären Alkaloiden beim Coniin wieder, doch in viel geringerem Grade. Die Curarinwirkung von Coniinchlorhydrat ist etwa 10 mal schwächer als die von Cytisinnitrat. Sie tritt erst auf durch Mengen, welche schon durch den Geruch nach Mäuseharn auffällig werden.

---

[1]) H. Fühner, Giftnachweis. S. 74.

Zusammenfassung.

Das toxikologisch-chemisch nicht mit genügender Sicherheit nachzuweisende Cytisin läßt sich pharmakologisch (biologisch) gut durch Versuche am Blutegel und Frosch charakterisieren.

Am zentrenfreien Blutegelpräparat bewirkt Cytisin genau wie Nicotin Tonusanstieg. Es läßt sich in gleicher Weise wie dieses in Bruchteilen eines Milligramms quantitativ an dem Präparat bestimmen, wirkt aber nur etwa $^1/_2$—$^1/_3$ so stark wie Nicotin.

Am Wasserfrosch unterscheiden sich Cytisin und Nicotin dadurch, daß das Cytisin die eigentümliche Beinhaltung wie das Nicotin nicht hervorruft, während es dem Nicotin fehlende starke Curarinwirkung besitzt.

Weitere Beiträge zur Theorie der Invertasewirkung.

Von

L. Michaelis.

(Eingegangen am 22. Januar 1921.)

I. Die Berechtigung zur Anwendung des Massenwirkungsgesetzes.

In der Auffassung vom Wesen der Fermentwirkung stehen sich heute zwei Anschauungen gegenüber. Die einen versuchen soweit als möglich die Gesetze der Reaktionskinetik für homogene Lösungen heranzuziehen, die anderen legen prinzipiell nur kolloidchemische Gesichtspunkte zugrunde. Beiden gemeinsam ist die Annahme einer intermediären Verbindung von Ferment und Substrat. Aber die einen[1]) lassen diese wie in homogenen Lösungen nach dem Massenwirkungsgesetz vor sich gehen, die anderen[2])

---

[1]) Ich darf mich begnügen, bezüglich der Literatur auf H. v. Euler, Chemie der Enzyme, 1920, zu verweisen. Ich nenne dazu noch von neuesten Arbeiten Northrop, Journ. of gen. Physiol. 1919, 1920, 1921.

[2]) Z. B.: Bayliss, The Nature of Enzyme Reaction. London 1910. Zu den Vertretern dieser Richtung gehört auch G. S. Hedin (Die Physikalische Chemie und ihre Beziehung zur Biologie, Wiesbaden 1916). Hedin hat bezüglich der Invertase seine Auffassung in präziser Form in den „Handlingar rörande tillsättandet av professorsämbetet i medicinsk och fysiologisk kemi vid Lunds Universitet 1920" ausgesprochen. Hier schreibt er (das in Anführungsstrichen Stehende ist wörtlich übersetzt): „Sollte, wie ich oben als möglich hingestellt habe, die Verbindung zwischen Substrat" (sc. Rohrzucker) „und Enzym" (sc. Invertase) „durch einen Adsorptionsprozeß zustande kommen — und hierauf deuten nahezu Michaelis' experimentelle Resultate" (Hedin deutet die von Michaelis und Menten erhaltene Kurve, welche die Geschwindigkeit der Invertasewirkung als Funktion der Zuckerkonzentration darstellt, als Adsorptionskurve), „so sind alle Berechnungen von Affinitäten auf die soeben angedeutete Weise" (gemeint ist auf die Weise, wie ich es in den Arbeiten: Diese Zeitschr. **49**, 333 u. a. getan habe) „unzulässig". Hedin macht also die Berechtigung für die Anwendung des Massenwirkungsgesetzes und für die Definierung von Affinitätskonstanten davon abhängig, ob die Bindung zwischen Ferment und Substrat eine „chemische" Affinität als Ursache hat oder ob es eine „Adsorptionsverbindung" ist.

nehmen Adsorptionsverbindungen an und lehnen jede Heranziehung des Massenwirkungsgesetzes ab. Wenn ich versuchen wollte, meinen Standpunkt auf Grund der Untersuchungen an der Invertase darzustellen, so müßte ich aus meinen eigenen Arbeiten zwei Darstellungsweisen nebeneinander anführen, die als vollkommene Widersprüche zueinander gelten könnten; eine kolloidchemische und eine homogenchemische Darstellung, wenn ich so sagen darf. Da die kolloidchemische Darstellung älteren Datums ist, so könnte es den Anschein erwecken, als ob ich meinen Standpunkt geändert hätte. Dies hätte ich natürlich ohne weiteres getan, wenn die Tatsachen mich dazu gezwungen hätten; aber der ganze Gegensatz ist nur scheinbar. Hier findet sich ein treffendes Beispiel dafür, daß neugeschaffene nützliche Begriffe, wie „Kolloidchemie, Adsorptionsverbindung, Oberflächenwirkung, Dispersitätsveränderung" zu bloßen Schlagworten werden können und auf Bedingungen angewendet werden, wo sie keinen Sinn haben.

Die scheinbaren Widersprüche sind folgende. Einerseits zeigte ich, daß Invertase von Tonerde oder Eisenoxyd adsorbiert wird, daß das mit dem Ferment beladene Adsorbens an Wasser das Ferment nicht wieder abgibt, aber dennoch Rohrzucker spaltet. Dieser Befund wurde durch weitere Arbeiten von O. Meyerhof[1]) und von Nelson und Griffin[2]) dahin ergänzt, daß die Wirkung des an Eisenoxyd[1]) und an Kohle[2]) gebundenen Ferments, wenn es mit Rohrzuckerlösung dauernd leicht geschüttelt wird, quantitativ wirklich genau die gleiche ist wie die der freien Fermentlösung. Da also das Ferment offenbar auch in adsorbiertem und somit gewiß kolloidalem Zustand voll wirksam ist, sprach ich die Vermutung aus, daß auch die wässerige Lösung des Ferments als eine kolloidale anzusehen sei.

Trotzdem trug ich in späteren Arbeiten kein Bedenken, das Massenwirkungsgesetz auf die Reaktionen der Invertase anzuwenden. Ich zeigte nämlich, daß der Wirkungsgrad einer wässerigen Fermentlösung, als Funktion von p_H dargestellt, die Form

[1]) O. Meyerhof, Arch. f. d. ges. Physiol. 157, 251, 1914.

[2]) Nelson und Griffin, Journ. of the Amer. Chem. Soc. 38, 1109. 1916. Für Kohle hatte Erikson behauptet, daß sie die Wirkung der Invertase hemmt. Nach Nelson und Griffin (Journ. of the Amer. Chem. Soc. 38, 722. 1916) ist dies jedoch nicht der Fall, wenn man für Aufrechterhaltung des günstigen p_H sorgt.

einer Dissoziationskurve oder Dissoziationsrestkurve hat[1]), und deutete dies im Sinne einer nach dem Massenwirkungsgesetz vor sich gehenden elektrolytischen Dissoziation des Ferments, oder besser, wie ich es später korrigierte[2]), der als Säure aufzufassenden Ferment-Substratverbindung. Auch den Einfluß der Zuckerkonzentration auf die Umsatzgeschwindigkeit deutete ich durch die Annahme einer stöchiometrischen, dem Massenwirkungsgesetz folgenden Verbindung von Zucker und Ferment[3]). Der Widerspruch kann also darin gefunden werden, daß einmal die Invertase als „kolloid" erkannt wird, und daß das andere Mal trotzdem das für „homogene Lösungen gültige" Massenwirkungsgesetz angewendet wird. Die Berechtigung hierzu ergibt sich aber aus folgenden Überlegungen.

Als wesentlichste Eigenschaft einer kolloiden Lösung gilt der unvollkommene Dispersionszustand des gelösten Stoffes. Als kleinste Elemente eines kolloidgelösten Stoffes nimmt man nicht seine einzelnen Moleküle, sondern Molekularaggregate an. Dies trifft z. B. für ein Kolloid wie Mastixsol vollkommen zu. In einem jeden einzelnen Teilchen eines Mastixsols hat man ein Aggregat von Tausenden von Molekülen dieser Harzsäure vor sich. Nur die an der Oberfläche gelegenen Moleküle können mit der umgebenden wässerigen Lösung in Reaktion treten, sie stellen die aktive Masse dar. Die von der Oberfläche abgesperrten Moleküle bilden eine tote Masse. Hier hat es einen Sinn, Masse und Oberfläche des gelösten Stoffes zu unterscheiden, von Oberflächenspannung, Dispersitätsveränderungen, elektrischen Phasengrenzpotentialen usw. zu sprechen; hier ist auch sicher die aktive Masse nicht der wahren Masse, sondern eher der Oberfläche proportional, und das Massenwirkungsgesetz darf nicht angewendet werden, d. h. nicht in der Form, daß man wie gewöhnlich die Konzentrationen als Maßstab für die aktiven Massen benutzt.

Wenn nun erwiesen wurde, daß die Invertase ein „Kolloid" sei, so wurde wohl von den meisten Forschern damit automatisch die Vorstellung verbunden, daß alles das, was für das Mastixsol zutrifft, auch für die Invertaselösung gilt. Man stellte sich die kleinsten Teilchen einer Invertaselösung als Aggregate von vielen Invertasemolekülen vor, von denen nur die oberflächlich gelegenen

[1]) L. Michaelis und H. Davidsohn, diese Zeitschr. **35**, 386. 1911.
[2]) L. Michaelis und T. Rothstein, diese Zeitschr. **110**, 217. 1920.
[3]) L. Michaelis und M. Menten, diese Zeitschr. **49**, 333. 1913.

wirksam seien. Alle Einflüsse, welche die Wirksamkeit des Ferments ändern, wurden „kolloidchemisch" gedeutet. Der Einfluß der $H^{\cdot}$-Ionen sollte darauf beruhen, daß diese den Dispersitätsgrad und somit die Größe der wirksamen Oberfläche beeinflussen. Der hemmende Einfluß der sog. oberflächenaktiven Stoffe wurde einer Adsorptionsverdrängung oder auch, je nachdem, einer Dispersitätsvergröberung zugeschrieben.

Nun zeigt doch aber der Adsorptionsversuch mit Eisenoxyd, daß eine Änderung des „Dispersionszustandes" bei der Invertase überhaupt keinen Einfluß auf ihre Wirkung hat. Dies ist eine gesicherte Erfahrungstatsache. Sie ist „kolloidchemisch" ein völliges Rätsel. Als solches stellen es z. B. auch Nelson und Griffin dar, die sich gar nicht erklären können, wie es möglich ist, daß adsorbierte Invertase genau so wirkt wie freie. Diese Tatsache zwingt uns zu folgenden Annahmen:

Sowohl im „freien" wie im adsorbierten Zustand ist jedes einzelne Molekül der Invertase unbehindert frei wirksam. Es gibt unter den erwähnten Versuchsbedingungen keine Molekülaggregate mit oberflächlich gelegenen, wirksamen und tief gelegenen, unwirksamen Invertasemolekülen. Somit ist es bedeutungslos, von der „Oberfläche" der Invertase zu sprechen und sie in einen Gegensatz zu ihrer Masse zu setzen, und die aktive Masse der Invertase ist ihrer Konzentration proportional. Dabei ist es ganz belanglos, ob man sich jedes einzelne Molekül der Invertase als wirklich „frei" vorstellt oder als Bestandteil eines Kolloidkomplexes, bestehend aus Hefegummi + Ferment oder Eisenoxyd + Ferment oder sonst irgendwie. Es ist nur erforderlich, daß 1. alle Moleküle der Invertase gleichwertig sind, daß es keine durch eine bestimmte Lage im Kolloidkomplex begünstigten Fermentmoleküle gibt, und 2. daß diejenige Kraft, welche das Fermentmolekül an diesen Kolloidkomplex (Hefegummi oder Fe_2O_3) fesselt, von anderer Natur als die Affinität zum Zucker ist; daß die Affinität des Fermentes zum Zucker nicht konkurriert mit der Affinität zum Fe_2O_3 usw. Wie das so sein kann, wird später einmal erforscht werden müssen. Daß es aber so ist, das beweist der Eisen-Adsorptionsversuch [1]).

[1]) Die Invertase ist somit das extreme Gegenstück zum Atmungsferment, bei welchem nach O. Warburg jede Dispersitätsänderung mit einer Änderung der Wirksamkeit verknüpft ist.

Wenn aber die aktive Masse eines Stoffes seiner Konzentration proportional ist, so ist — neben der wohl niemals in Zweifel gezogenen Reversibilität des Vorganges — damit die eine Voraussetzung für die Anwendung des Massenwirkungsgesetzes erfüllt. Wo aber das Massenwirkungsgesetz gilt, gibt es auch eine Affinitätskonstante.

Wenn aber in anderen Fällen die aktive Masse der Invertase der Konzentration nicht proportional ist, so ist damit noch keineswegs der Vorgang als ein „kolloidchemischer" erwiesen. So hat z. B. Neuschlosz[1]) beschrieben, daß Salze in höherer Konzentration die Wirkung der Invertase hemmen, und daß man dabei die bekannten Ionenreihen erhält und besonders zweiwertige Ionen stärker wirken als einwertige. Er deutet das als einen „kolloidchemischen Vorgang" und findet überall „Adsorptionsisothermen". Was würde man wohl dazu sagen, wenn man behauptete, der Einfluß verschiedener Ionen auf die (elektromotörische) Aktivität der H-Ionen[2]) in einer HCl-Lösung sei ein kolloidchemischer Vorgang? Dabei ist der Vorgang ganz analog. Die Wirkung der verschiedenen Ionen auf die aktive Masse der H-Ionen wächst stark mit der Wertigkeit der Ionen. Aus der Kurve, welche die Aktivität der H-Ionen in einer verdünnten HCl-Lösung unter dem Einfluß steigender Mengen von KCl darstellt, kann man ebenso gut eine „Adsorptionskurve" herauslesen. Die Aufklärung für diese Wirkung hat aber nicht die Kolloidchemie gebracht, sondern die Untersuchungen von Milner[3]) und von Bjerrum. Nicht Dispersitätsänderungen, sondern elektrostatische Wirkungen der Ionen sind die Ursache hierfür. Ähnlich ist es vielleicht mit der Neutralsalzwirkung auf die Invertase. Wir konnten in unseren Untersuchungen von dieser Wirkung absehen, weil sie sich erst bei sehr hoher Salzkonzentration äußert; so z. B. nach Fales und Nelson[4]) bei NaCl erst in zweifach molarer Lösung. Sonst ist die aktive Masse der Invertase stets ihrer Konzentration proportional.

Die zweite Voraussetzung für die Anwendbarkeit des Massenwirkungsgesetzes ist, daß die einzelnen, an der Reaktion be-

---

[1]) S. M. Neuschlosz, Arch. f. d. ges. Physiol. **181**, 45. 1920.

[2]) N. Bjerrum, Zeitschr. f. Elektrochemie **1918**, S. 321.

[3]) Milner, Phil. Mag. (6) **23**, 551. 1912 und **25**, 743. 1913.

[4]) Fales und Nelson, Journ. of the Amer. Chem. Soc. **37**, 2769. 1915.

teiligten Stoffe stöchiometrisch eindeutig definierte Molekülarten sind. Für unseren Fall bedeutet das, daß die chemischen Gleichungen

a) 1 Mol. Invertase + 1 Mol. Zucker ⇌ 1 Mol. Invertasezuckerverbindung und

b) 1 Mol. Invertasezuckerverbindung ⇌ 1 Invertasezuckeranion + 1 $H^{\cdot}$-Ion

zu Recht bestehen. Daß diese Voraussetzungen zu Recht bestehen, kann dadurch erwiesen werden, daß das Produkt der aktiven Massen der linken Seite in jeder der beiden Gleichungen zu dem Produkt der aktiven Massen der rechten Seite in einem unabänderlichen Verhältnis steht, welches man eben die Affinitätskonstante bzw. Dissoziationskonstante nennt. Dies glaube ich aber gerade bewiesen zu habt. Ich bedurfte hierzu nur der Hilfshypothese, daß die Konzentration der Invertasezuckerverbindung der Umsatzgeschwindigkeit proportional ist. Ein Einwand gegen meine Theorie kann nicht darin bestehen, daß man sagt, meine Kurven könnten „auch anders gedeutet" werden. Diese andere Deutung von Hedin beruht auf der Annahme einer stöchiometrisch nicht definierten Verbindung („Adsorptionsverbindung") von Saccharose und Ferment. Eine solche Annahme würde nur dadurch bewiesen werden, daß man beweist, daß eine bestimmte Affinitätskonstante nicht errechenbar ist, sondern daß diese Konstante, wenn man sie berechnen wollte, einen Gang hat. Ich habe gezeigt, daß sie keinen Gang hat. Ein wirklicher Einwand wäre nur die Nichtanerkennung meiner Hilfshypothese, daß die Konzentration der Zuckerfermentverbindung der Umsatzgeschwindigkeit proportional ist. Dies bleibt eine Hypothese, welche vielleicht einmal widerlegt werden könnte, so wahrscheinlich sie klingt. Aber erst nach ihrer Widerlegung hätten wir Anlaß, die ganze Theorie umzugestalten. Meine Annahme ist die einfachere und muß nach dem allgemeinen logischen Prinzip der Naturwissenschaften aufrechterhalten werden, solange das experimentelle Material mit ihr vereinbar ist; sie darf aber nicht deshalb aufgegeben werden, weil auch eine andere, kompliziertere und unklarere Grundannahme imstande wäre die Erscheinungen zu erklären.

II. Über die Ablösung adsorbierter Invertase.

O. Meyerhof[1]) beschreibt, daß an Eisenhydroxyd adsorbierte Invertase durch Saccharose abgelöst wird und wieder in Lösung geht. Man hätte also daran denken können, daß die Wirksamkeit der an Eisenoxyd adsorbierten Invertase auf Saccharose einfach darauf beruht, daß der Zucker das Ferment von der adsorbierenden Oberfläche ablöst und die eigentliche Fermentwirkung in der freien Lösung vor sich geht. Diese Deutung ist denn auch für die analogen Versuche mit Kohle von Erikson[2]) gegeben worden. Sie ist aber nicht richtig, wie auch schon Nelson und Griffin betont haben. Zunächst hat Meyerhof gezeigt, daß in seinen Versuchen in den günstigsten Fällen nur bis etwa $^2/_3$ der gebundenen Fermentmenge durch den Zucker wieder in Lösung gebracht wird, während die Wirkung des Ferments völlig identisch ist, ob es an Eisen gebunden oder in Lösung ist. Wir werden aber zweitens in Bestätigung der uns erst nachträglich bekannt gewordenen Versuche von Nelson und Griffin zeigen, daß die Ablösung des Ferments von Eisen ein sehr langsam vor sich gehender Prozeß ist. So ist z. B. in unseren Versuchen in der ersten Viertelstunde nur eine Spur des Ferments abgelöst worden. Erst nach einer Stunde wird die Ablösung vollständiger. Dagegen ist die Wirkung des an Eisen gebundenen Ferments auf Saccharose vom ersten Augenblick an völlig identisch mit der Wirkung einer wässerigen Fermentlösung von gleicher Konzentration. Offenbar ist dieser Vorgang der Fermentablösung weder notwendig für die Wirkung, noch in seinem Wesen irgendwie zusammenhängend mit derselben.

Bei der Rätselhaftigkeit dieser Erscheinung war es von Interesse festzustellen, welche Stoffe denn überhaupt imstande sind, die Invertase vom Eisen abzulösen. Von den untersuchten Stoffen

---

[1]) O. Meyerhof, Arch. f. d. ges. Physiol. 157, 251. 1914. Eigentlich müßte Erikson[2]) als erster angeführt werden, der diese Tatsache (für Kohle) beschreibt. Aber eine klare Beurteilung der Resultate von Erikson und überhaupt der Arbeiten der Hedinschen Schule auf diesem Gebiet wird dadurch außerordentlich erschwert, daß die Wirkung der Wasserstoffionen nicht berücksichtigt wird. In einigen Fällen, z. B. bei der angeblich hemmenden Wirkung von Blutserum auf die Invertasewirkung, ist der Trugschluß, den diese Vernachlässigung zur Folge gehabt hat, offenbar; in anderen Fällen ist ein klarer Einblick in den Effekt, den eine etwaige Änderung von p_H gehabt hat, überhaupt nicht möglich.

[2]) Erikson, Zeitschr. f. physiol. Chemie 72, 324. 1911.

zeigte sich, daß selbst nach 20stündiger Einwirkung keine Ablösung eingetreten war bei: Glucose, Fructose, Mannose, Lactose, α- und β-Methylglykosid, dagegen zeigte sich eine Ablösung durch Saccharose, Raffinose, Maltose, Serumeiweiß. Die Tatsache, daß Raffinose und Maltose als einzige Zuckerarten außer der Saccharose ablösend wirkten, beweist, daß dieser Vorgang nichts zu tun hat mit der spezifischen Fermentwirkung. Raffinose ist zwar der Saccharose analog, da sie von Invertase analog der Saccharose gespalten wird[1]); aber Maltose hat in wässeriger Lösung nicht die geringste Beziehung zur Invertase, weder wird sie von Invertase gespalten, noch hemmt sie die Spaltung der Saccharose durch das Ferment auch nur im geringsten[2]). Auf der anderen Seite sehen wir, daß Stoffe, wie Glucose, Fructose, Mannose, die in wässeriger Lösung die Wirkung der Invertase auf Saccharose stark hemmen und zweifellos eine der Saccharose vergleichbare hohe Afinität zu diesem Ferment haben, keine Spur einer ablösenden Wirkung auf das adsorbierte Ferment ausüben. Von den beiden Methylglykosiden hemmt das eine (α) die Fermentwirkung stark, das andere (β) gar nicht[2]); abzulösen vermögen beide nicht im geringsten. Die am nächsten liegende Deutung wäre wohl die einer Adsorptionsverdrängung. Eine solche Deutung dürfte wohl für die ablösende Wirkung des Serumeiweißes annehmbar sein und diese Tatsachen bilden offenbar einen Teil der schon in früheren Jahren beschriebenen zahlreichen Versuche von Hedin[3]), daß adsorbierte Fermente durch Eiweiß von dem Adsorbens wieder abgelöst werden können. Ebenso haben auch Nelson und Griffin nachgewiesen, daß Invertase bei Gegenwart von Eiweiß von Pulvern weniger stark adsorbiert wird.

Diese Annahme der Adsorptionsverdrängung ist aber für die anderen ablösenden Stoffe nicht möglich. Denn weder Saccharose noch Lactose werden auch nur in Spuren von Eisenhydroxyd adsorbiert, und es ist überhaupt kein Unterschied der ablösenden und nicht ablösenden Zuckerarten in ihrem sonstigen Verhalten gegen

---

[1]) Die zweite, von C. Neuberg gefundene Spaltungsmöglichkeit durch Emulsin kommt hier nicht in Betracht.

[2]) L. Michaelis u. H. Pechstein, diese Zeitschr. 60, 79. 1914.

[3]) G. S. Hedin, Biochemical Journ. 2, 81. 1906; 2, 112. 1906 u. a. Siehe: Hedin, Grundzüge der physikalischen Chemie in ihrer Beziehung zur Biologie, Wiesbaden 1915, S. 133 und S. 179.

Eisenoxyd zu bemerken. Die Erscheinung der Ablösung des Ferments ist somit eine ganz ungeklärte eigenartige Erscheinung, welche gar keine Beziehung hat zu den im ersten Teil dieser Arbeit aufgeworfenen Fragen. Sie wirft ein neues Problem auf und steht vorläufig in keiner erkennbaren Beziehung zu meinen theoretischen Untersuchungen über die Invertasewirkung.

Es ist vielleicht von Interesse, einige Wirkungen verschiedener Zucker auf die fermentative Rohrzuckerspaltung zusammenzustellen, um sich der Rätselhaftigkeit dieser Erscheinungen bewußt zu werden.

Tabelle I.

Die Spaltung der Saccharose wird		An Fe_2O_3 adsorbierte Invertase wird		Durch Invertase werden folgende Disaccharide bzw. Glucoside	
gehemmt durch	nicht gehemmt durch	in Freiheit gesetzt durch	nicht in Freiheit gesetzt durch	hydrolysiert	nicht hydrolisiert
Fructose Glucose Mannose α-Methylglucosid	Lactose Maltose β-Methylglucos.	Saccharose Maltose Raffinose	Lactose Glucose Fructose Mannose α-Methylglucos. β-Methylglucos.	Saccharose Raffinose	Maltose Lactose α- und β-Methylglucos.

III. Experimenteller Teil

(in Gemeinschaft mit Frl. **T. Rothstein**).

Die Versuche wurden in folgender Weise angestellt:

A. Ablösungsversuche mit Rohrzucker.

Mit Rücksicht auf die in der zitierten Literatur schon festgestellten Tatsachen waren nur einige kontrollierende Nachuntersuchungen erforderlich.

50 ccm halbverdünnter Invertaselösung (wie in den früheren Arbeiten hergestellt) wurden tropfenweise unter dauerndem Umschütteln mit 50 ccm einer fünffach verdünnten Lösung von Liq. ferri oxydati dialysati versetzt und nach etwa $^1/_2$ Stunde scharf zentrifugiert. Die überstehende Flüssigkeit wurde auf Invertasewirkung geprüft (Zentrifugat 1a der Tabelle), indem 5 ccm von ihr mit 5 ccm einer 10 proz. Rohrzuckerlösung und 5 ccm Standardacetatlösung versetzt ($p_H = 4,6$) und polarisiert wurden. Die Beobachtung der Drehungsänderung geschah direkt im Rohr ohne vorherigen Zusatz von Sodalösung. Für diese halbquantitativen Versuche war die Unterbrechung mit Soda nicht erforderlich. Der Niederschlag wurde noch mehrmals mit Wasser ausgewaschen und

zentrifugiert. Ein Teil des Niederschlags wurde dann mit 50 ccm Wasser versetzt, gut aufgerührt und 1 Stunde stehen gelassen. Nun wurde er filtriert und das Filtrat nach Zusatz von Zuckerlösung und Standardacetat in obigen Mengenverhältnissen polarimetrisch untersucht (1b). Der andere Teil des Niederschlages wurde mit 50 ccm 10 proz. Rohrzuckerlösung versetzt und in gewissen Zeitabständen ($^1/_4$—1 Stunde) portionsweise filtriert und ebenfalls auf Invertasewirkung geprüft (1c, 1d). In diesem Fall erübrigte sich der nachträgliche Zusatz von Rohrzucker.

Tabelle II.

Versuch Nr.	Untersuchte Flüssigkeit	Dauer d. Einwirkung d. Wassers resp. der Zuckerlösung auf den Niederschlag in Min.	Drehung zu Beginn der Beobachtung im Rohr in °	Dauer der Beobachtung in Min.	Drehung am Schluß der Beobachtung in °	Drehungsänderung in °
1a	Zentrifugat . . .	—	6,62	60	6,61	0
1b	Wässeriger Auszug	60	3,42	38	3,45	0
1c	Rohrzuckerauszug	15	4,25	80	2,79	1,46
1d	„	60	—0,56	30	—1,39	0,83
2a	Wässeriger Auszug	60	4,71	60	4,70	0
2b	Rohrzuckerauszug	15	4,00	120	3,61	0,39
2c	„	45	1,86	90	0,94	0,92

1b zeigt, daß der mit Ferment beladene Eisenniederschlag an Wasser kein Ferment abgibt. 1c zeigt, daß er an Zuckerlösung Ferment abgibt. 1d zeigt, daß er nach längerer Berührung mit der Zuckerlösung viel mehr Ferment abgibt als bei kürzerer (1c); die anfänglichen Zuckermengen waren in beiden Fällen gleich; zur Zeit des Abfiltrierens war in 1c die Spaltung schon viel weiter vorgeschritten als in 1b; also selbst wenn die Drehungs änderung pro Minute nach dem Filtrieren bei 1c nur gleich der in 1c gewesen wäre, hätte das bewiesen, daß in 1d viel mehr Ferment in Lösung war; die Drehungsänderung ist aber pro Minute in 1b sogar größer als in 1c (0,0277° gegen 0,0185°). Dasselbe gilt noch deutlicher für 2a, 2b, 2c (0,0102° gegen 0,00325°!).

Noch klarer wird der Befund durch folgende Betrachtung. In Versuch 1c war die Zuckerlösung 15 Minuten mit dem fermenthaltigen Niederschlag in Berührung, und das Filtrat stand dann noch weitere 80 Minuten (zusammen 95 Minuten). Im Versuch 1d war die Zuckerlösung 60 Minuten mit dem Niederschlag in Berührung, und das Filtrat stand dann noch 30 Minuten (zusammen 90 Minuten). Im ersten Fall ist nach 95 Minuten eine Drehung von + 2,79°, im zweiten Fall nach 90 Minuten — 1,39° erreicht. Im Versuch 2b und 2c ist es ähnlich. Gesamtdauer in beiden Fällen 135 Minuten; war die Zuckerlösung von diesen 135 Minuten 15 Minuten mit dem Niederschlag in Berührung, so beträgt die Drehung nach 135 Minuten + 3,61°. War sie 45 Minuten in Berührung, beträgt die Drehung nach 135 Minuten + 0,94°.

Resultat: Die angewandte Menge Eisen hat die Invertase vollkommen adsorbiert. Die adsorbierte Invertase läßt sich mit Wasser nicht ablösen, wohl aber durch Waschen mit Rohrzucker. Diese Ablösung geschieht aber langsam, mit der Zeit allmählich fortschreitend.

B. Ablösungsversuche mit anderen Zuckerarten und Serum.

20 ccm halbverdünnte Invertase wurden tropfenweise unter Umschütteln mit 20 ccm fünffach verdünnter Eisenhydroxydlösung versetzt und nach $^1/_2$ Stunde mehrmals scharf zentrifugiert und ausgewaschen. Ein Teil des Niederschlags wurde mit 20 ccm Wasser stehen gelassen, der andere Teil mit 20 ccm der betreffenden Zucker- resp. Serumlösung. Beide wurden nach gewissen Zeiten filtriert und auf Invertasegehalt in der oben angegebenen Weise untersucht. Zu diesem Zwecke wurden die Zentrifugate mit Rohrzuckerlösung versetzt, etwa 2% definitiver Zuckergehalt. Bei dem Versuch mit Raffinose wurde kein Rohrzucker zugesetzt. Nachdem sich erwiesen hatte, daß z. B. Fructose keine Invertase aus dem Niederschlag abzulösen vermag, wurde dieser nun nachträglich mit Rohrzucker extrahiert. Es zeigte sich, daß auch unter diesen Bedingungen der Rohrzucker noch nachträglich ablösend wirkte.

Tabelle III.

Versuch Nr.	Auszug des Eisenniederschlags mit	Dauer der Einwirkung des Wassers, resp. d. Lösung auf den Niederschlag	Drehung zu Beginn d. Beobachtung im Rohr in °	Dauer der Beobachtung	Drehung am Schluß der Beobachtung in °	Drehungsänderung in °
3	Wasser	78 Min.	2,33	35 Min.	2,32	0
	10 proz. Fructoselösung . . .	78 „	0,44	37 „	0,45	0
4	Wasser	20 Std.	2,24	60 „	2,24	0
	10 proz. Fructoselösung . . .	20 „	0,51	60 „	0,51	0
	10 „ Rohrzuckerlösung . .	60 Min.	1,75	38 „	1,25	0,50
5	20 „ Glucoselösung . . .	20 Std.	4,10	60 „	4,10	0
6	10 „ Mannoselösung . . .	20 „	2,46	60 „	2,45	0
7	10 „ Laktoselösung	20 „	3,49	60 „	3,50	0
8	20 „ Maltoselösung	20 „	7,46	60 „	5,90	1,56
	20 „ „	20 „	7,29	90 „	5,40	1,89
9	10 „ α-Methylglykosidlösung	20 „	6,57	60 „	6,56	0
10	10 „ β- „	20 „	2,51	60 „	2,50	0
11	10 „ Raffinoselösung . . .	45 Min.	5,87	20 Std.	4,07	1,80
12	0,2 proz. Serumlösung	20 „	1,75	60 Min.	0,15	1,60
13	0,4 „ „	20 „	1,62	60 „	0,06	1,56

Resultat: Die an Eisenhydroxyd adsorbierte Invertase wird nicht abgelöst durch Fructose, Glucose, Mannose, Lactose, α- und β-Methylglykosid. Sie wird abgelöst durch Saccharose, Maltose, Raffinose, Serumeiweiß.

C. Wirkung der Invertase in adsorbiertem Zustand.

A. 20 ccm 10 proz. Rohrzuckerlösung wurden mit 20 ccm fünffach verdünnter Invertaselösung, 20 ccm Standardacetat und 20 ccm fünffach verdünnter $Fe(OH)_3$-Lösung versetzt. Zur Kontrolle B wurde das gleiche Gemisch statt mit 20 ccm $Fe(OH)_3$-Lösung mit 20 ccm Wasser angesetzt. Es wurden in gewissen Zeitabständen Entnahmen von 15 ccm der Gemische A und B in 3 ccm gesättigte Sodalösung abgefüllt und polarimetrisch untersucht.

Resultat: Der Rohrzuckerumsatz verlief in beiden Fällen durchaus innerhalb der Versuchsfehler parallel. Invertase wirkt also in adsorbiertem Zustand ebenso stark wie in Lösung. Da hierüber schon zahlreiche Versuche von Michaelis, Meyerhof, Nelson und Griffin vorliegen, begnügten wir uns mit diesem einen Versuch zur Bestätigung der Befunde.

Um zu zeigen, daß Saccharose von Eisenhydroxyd nicht adsorbiert wird, versetzten wir je 20 ccm einer 2 proz. Rohrzuckerlösung mit einer fünffach verdünnten $Fe(OH)_3$-Lösung, koagulierten die Lösung durch eine Spur Na_2SO_4; andererseits wurden 20 ccm 2 proz. Zuckerlösung mit Wasser statt mit $Fe(OH)_3$ versetzt. Die Drehung beider Gemische wurde sofort und nach 2stündigem Stehen mit dem Eisenhydroxyd nach dem Filtrieren polarimetrisch verglichen, und es ergab sich, daß durch den Eisenzusatz kein Zucker aus der Lösung verschwunden war.

Die Reinheit sämtlicher angewandter Zuckerarten wurde durch Bestimmung von $[\alpha]_D$ kontrolliert.

Zusammenfassung.

Zu den Eigenschaften der Kolloidität pflegt man auch denjenigen Dispersionszustand zu zählen, bei welchem die disperse Phase oberflächlich gelegene, wirksame und in der Tiefe gelegene, unwirksame Moleküle enthält, so daß die aktive Masse nicht der Konzentration des gelösten Stoffes, sondern seiner Oberfläche proportional ist. Dieser Zustand ist in einer Invertase-

lösung nicht vorhanden. In ihr ist die aktive Masse des Ferments, sei es „frei“ oder an Eisenoxyd oder Kohle adsorbiert, stets der Konzentration desselben proportional. Diese Eigenschaft berechtigt, das Massenwirkungsgesetz anzuwenden.

Die Wirksamkeit der an Eisenoxyd adsorbierten Invertase hängt nicht mit der Fähigkeit des Rohrzuckers zusammen, die Invertase vom Eisenoxyd abzulösen; denn die adsorbierte Invertase wirkt schon, bevor sie abgelöst ist. Das Ablösungsvermögen der verschiedenen Zuckerarten steht in keinem bisher erkennbaren Zusammenhang mit ihrer fermentspezifischen Beziehung zur Invertase.

Über ein Kohlenstoffketten knüpfendes Ferment (Carboligase).

Von

Carl Neuberg und **Julius Hirsch.**

(Aus der chemischen Abteilung des Kaiser Wilhelm-Instituts für experimentelle Therapie in Berlin-Dahlem.)

Voll Staunen steht täglich der Biochemiker der Fülle synthetischer Vorgänge gegenüber, die sich in erster Linie im Organismus der Pflanzen, aber auch im Tierkörper abspielen. Es entspricht unserer gegenwärtigen Auffassung, letzten Endes die aufbauenden Prozesse auf Leistungen von Katalysatoren zurückzuführen.

Die große Zahl bekannter Enzyme dient vornehmlich der Molekülzerkleinerung, dem Abbau; die Wirkungen der verschiedenen Carbohydrasen, Esterasen und Proteasen bilden die typischen und wichtigsten Erscheinungen dieser Art. Auch die Umkehr solcher fermentativen Hydrolysen, die enzymatische Anhydrisierung, ist bekannt.

In Erfüllung der von G. Tammann und van t'Hoff aufgestellten Forderung ist mit Hilfe von Fermenten eine Anzahl glucosidischer Molekülverknüpfungen vorgenommen worden. A. Croft Hills, O. Emmerlings sowie Armstrongs Arbeiten über den Zusammenschluß von Traubenzuckerresten zu einem Disaccharide mittels der Maltase, die von E. Fischer und E. F. Armstrong vollzogene Vereinigung von Glucose und Galaktose durch Kefirlactase, van t'Hoffs, Bayliss' sowie Bourquelots in Gemeinschaft mit Aubry, Bridel und Hérissey erfolgreich ausgeführten biochemischen Darstellungen von mannigfachen β- und α-Glucosiden nebst Galaktosiden sowie von Gentiobiose und Cellobiose sind Beispiele für diesen Vorgang in der Gruppe der Kohlenhydrate. Auch P. A. Levenes und G. M. Meyers Angaben über die kondensierende Wirkung von Gewebsextrakten auf Hexosen sowie Cremers und Rubners Beobachtungen über die Polymerisation von Zucker zu komplizierten Sacchariden (zu sogenanntem Glykogen) im Preßsafte von Hefe gehören hierher, während nach Lintners, Sallingers und Samecs neuesten Forschungen alle Annahmen einer Rückbildung von Stärke aus Dextrinen unter dem Einflusse der Amylase auf Trugschlüssen beruhen.

Ein analoger Aufbau von Estern unter Mitwirkung spezifischer Katalysatoren ist, und zwar bei fettähnlichen Stoffen, Kastle und Loewenhart, Pottevin, Bodenstein und Dietz, Welter, Hamsik, Taylor nebst anderen mit verschiedenen Lipasen gelungen, während ein Ester mit anorganischem Säurerest von Iwanoff, Lebedew, Harden und Young, v. Euler sowie Neuberg aus Hexosen und Phosphaten durch Digestion mit Hefenferment erhalten worden ist.

Auch in der Proteinreihe sind seit Danilevskys u. Okunews Entdeckung der Plasteine solche reversiblen Prozesse der Polypeptidbildung bekannt geworden. Die Eiweißnatur der betreffenden, aus abgebauten Proteinen erhaltenen Produkte wurde durch die Arbeiten von Kurajeff, Lawrow und anderen russischen Forschern sowie von Levene und van Slyke wahrscheinlich gemacht. V. Henriques und Gjaldbäk haben alsdann gezeigt, daß diese Koagulosen wirklich dem Eiweiß gleichen, indem sie durch Wasseraustritt zwischen der charakteristischen Amid- und Carboxylgruppe von Aminosäureaggregaten entstehen, also Säureamidstruktur besitzen dürften. Die erwähnte „Eiweißrückbildung" vollzieht sich unter dem Einflusse der Magenenzyme Pepsin bzw. Lab sowie des Papayotins; auch Organsäfte, die nach Abderhalden unter bestimmten Bedingungen selbst bis zu Aminosäuren aufgespaltenes Eiweiß wieder zu höheren Molekülverbänden zusammenzufügen scheinen, wirken ähnlich. Als substituierte Phosphaminsäuren komplizierten Baues können vielleicht die Produkte angesprochen werden, die nach T. B. Robertsons Erfahrungen Pepsin aus Caseinalbumosen erzeugt. Einfachere Stoffe von Carbamidcharakter sind gleichfalls auf diesem Wege gewonnen worden, was Schmiedeberg sowie Abelous und Ribaut an dem Beispiele der Hippursäureentstehung gezeigt haben.

Wie aber bei den Abbaureaktionen lediglich Kohlenstoff-Sauerstoff- oder Kohlenstoff-Stickstoffbindungen gelöst werden, so erstreckt sich der Erfolg einer Wiedervereinigung auf die Herstellung eben derselben Bindungen, deren Grundformen in der Glucosid-, Ester- oder Säureamidstruktur vorliegen. Somit sind alle diese Reaktionen ihrem Wesen nach enzymatische Anhydrisierungen: rückläufig gemachte Hydrolysen, an deren Zustandekommen keinerlei Oxydationen, Reduktionen oder Kohlenstoffverknüpfungen Anteil haben.

Nicht gelungen ist bisher eine entsprechende enzymatische Synthese von Kohlenstoff-Kohlenstoffketten, also etwa eine Umdrehung der Vorgänge, die sich bei den Gärungsprozessen abspielen; und gerade solche Kernsynthesen beanspruchen das allergrößte biochemische Interesse. Treten sie uns doch in Gestalt von Gesamtleistungen lebender Zellen

als besonders bedeutungsvoll vor Augen. Die natürliche Entstehung der Fette durch Condensation bestimmter Umwandlungsprodukte der Zuckerarten im Tier- und Pflanzenreiche, weiterhin die Bildung der komplizierten Proteingrundsteine und Alkaloide in ihrer kaum erschöpften Mannigfaltigkeit, die Erzeugung der lebenswichtigen Hormone und Vitamine sind derartige Handlungen, welche die Organismen in reichhaltigstem Maße vollbringen.

Geleitet von dem Gedanken, daß solchermaßen aufbauende Enzyme vorhanden sein müssen, haben wir nach ihnen gefahndet und nach längeren vergeblichen Versuchen in der Hefe, dem Fundorte auch des einfachsten Kohlenstoffketten zerreißenden Enzyms, der Carboxylase, das erste derartige geradlinige Kohlenstoffketten zusammenfügende Ferment angetroffen. Wir nennen es, da es unmittelbar C—C-Bindungen knüpft, **Carboligase.**

Folgende Beobachtungen, die sich im Verlaufe unserer Gärungsarbeiten ergaben, waren richtungweisend:

Bei den phytochemischen Reduktionen, die nach den Untersuchungen von Neuberg und Mitarbeitern bei einfachen und zusammengesetzten Aldehyden, bei Ketonen und Diketonen, Thioaldehyden und Disulfiden, aliphatischen nebst aromatischen Nitro-, Nitroso- und Hydroxylaminokörpern sowie anorganischem Material verwirklicht werden können, findet im Grunde ein Wettbewerb zwischen der zugefügten Substanz und dem bei der Zuckerspaltung intermediär auftretenden Acetaldehyd um den „labilen Gärungswasserstoff" statt[1]). Theoretisch müßte für die phytochemisch bewirkte Aufnahme je zweier Wasserstoffatome ein Mol. Acetaldehyd übrigbleiben. Tatsächlich fanden Neuberg und Lewite, Nord sowie Neuberg und Nord bei der biochemischen Umwandlung von Methylheptenon, Thioaldehyden, verschiedenen Ketonen und Diketonen in Methylheptenol, Mercaptane und sek. Alkohole den Acetaldehyd im Gärgut, aber im allgemeinen nicht in einer Ausbeute, die der Menge des Reduktionsproduktes entsprach. Sie schlossen[2]) daraus, daß sekundäre Veränderungen mit dem Acetaldehyd vor sich gehen; denn in irgendeiner Form muß das Oxydationsäquivalent für den voll-

[1]) Vgl. hierzu C. Neuberg und J. Hirsch, diese Zeitschr. 98, 146. 1919.

[2]) C. Neuberg und A. Lewite, diese Zeitschr. 91, 257. 1918; F. F. Nord, B. 52, 1210. 1919; C. Neuberg und F. F. Nord, B. 52, 2242 und 2251. 1919.

zogenen Reduktionsprozeß vorliegen. Eine Dismutation[1]) des zu reduzierenden Körpers selbst kommt bei gleichzeitigem Zuckerzerfall[2]) nicht in Frage; denn bei den Aldehyden sprach der Ertrag an zugehörigem Alkohol, der sich bis auf 85% der Theorie beläuft, gegen eine Mitwirkung der Cannizzaroschen Reaktion. Bei den Ketonen, Disulfiden sowie Stickstoff-Sauerstoff-Verbindungen war eine einfache Disproportionierung überhaupt nicht möglich.

Wir untersuchten daher die vor Jahren von C. Neuberg und E. Welde[3]) beschriebene phytochemische Umwandlung von Benzaldehyd in Benzylalkohol von neuem unter besonderer Berücksichtigung des Auftretens von weiteren Produkten; an diesen hatte bei den ersten Studien über die phytochemische Reduktion, deren Ziel in der Darlegung des allgemeinen Charakters dieser Prozesse gelegen war, kein Interesse bestanden, und auch die Methodik war nicht auf ihre Isolierung gerichtet gewesen. Ferner schien uns jetzt die Zeit reif, diesen ganzen Komplex von Erscheinungen in eine durchsichtigere Beziehung zu den gleichzeitig sich abspielenden Vorgängen des Kohlenhydratumsatzes zu bringen. Denn in einem Sonderfalle, bei der reduktiven Bildung des Glycerins (aus einer hydrierbaren Abbaustufe des Zuckers), ist es seither möglich gewesen, den vollständigen Zusammenhang zwischen Oxydationshub und Reduktionsleistung sowohl hinsichtlich der quantitativen als bezüglich der zeitlichen Verhältnisse klarzulegen[4]).

Für die biochemische Umwandlung des Benzaldehyds ergaben sich nun folgende bemerkenswerten Verhältnisse. Läßt man z. B. eine 4proz. Lösung von Saccharose oder Glucose unter Zugabe von Benzaldehyd (10% der angewendeten Zuckermenge) bei Zimmertemperatur oder 37° vergären, so riecht das Gärgut nach 24 Stunden kaum noch und zum Schluß, d. h. nach 3—5 Tagen,

[1]) Vgl. hierzu C. Neuberg, J. Hirsch und E. Reinfurth, diese Zeitschr. **105**, 308. 1920.

[2]) Ohne jenen kann sie eintreten, wie demnächst dargetan wird.

[3]) C. Neuberg und E. Welde, diese Zeitschr. **62**, 478. 1914.

[4]) C. Neuberg und E. Färber, diese Zeitschr. **78**, 238. 1916; C. Neuberg und E. Reinfurth, diese Zeitschr. **89**, 365 und **92**, 234. 1918; C. Neuberg und J. Hirsch, diese Zeitschr. **98**, 141. 1919; **105**, 307. 1920.

gar nicht nach Bittermandelöl. Das filtrierte Gärgut, das keinen Zucker mehr enthält, aber selbst wenn man von Glucose ausgegangen ist, nach links dreht, scheidet auffallenderweise aus Fehlingscher Mischung schon in der Kälte nach ganz kurzem Stehen Kupferoxydul ab. Das Gärgut zeigt ferner einen positiven Ausfall der Legalschen Probe. Der reduzierende Körper ist mit Wasserdampf, wenn auch schwierig, flüchtig und reagiert mit Phenylhydrazin; er geht ferner in Äther, Benzol od. dgl. über und hinterbleibt beim Abdampfen des Extraktionsmittels als schwach gelbliches Öl, das gleichfalls optisch aktiv, und zwar lävogyr, ist. Ein Tropfen des so gewonnenen Liquidums reduziert alkalische Kupferlösung augenblicklich in der Kälte. Alle diese Eigenschaften sind weder mit dem Vorliegen unveränderten Benzaldehyds noch mit der Anwesenheit von Benzylalkohol als seines einzigen Umsetzungserzeugnisses vereinbar. Mannigfaltige Schwierigkeiten waren zu überwinden, da das neue phytochemische Produkt empfindlich ist, solange Gemische vorliegen; nach geeigneter Reinigung gelang es, seine Natur festzustellen. Es handelt sich um einen optisch-aktiven α,β-Ketonalkohol. Wir haben ihn in freiem Zustande isoliert, ferner sein Phenylhydrazon nebst seinem p-Nitrophenylosazon dargestellt, das Semicarbazon und Thiosemicarbazon sowie die Bisulfitverbindung erhalten. Unzweifelhaft hat die Substanz die Zusammensetzung $C_9H_{10}O_2$ und besitzt, wie im experimentellen Teile dargelegt wird, die Konstitution $C_6H_5 \cdot CO \cdot \overset{*}{C}HOH \cdot CH_3$ oder $C_6H_5 \cdot \overset{*}{C}HOH \cdot CO \cdot CH_3$; wahrscheinlicher erscheint uns vorläufig die erste Formel. (Eine sichere Entscheidung zwischen beiden werden hoffentlich Versuche erbringen, die noch im Gange sind.)

Die anfangs auch in Betracht zu ziehende Aldolkonfiguration ($C_6H_5 \cdot CHOH \cdot CH_2 \cdot CHO$) mußten wir bald außer Betracht lassen. Für die Ablehnung der Aldehydstruktur war weniger der negative Ausfall der Fuchsin-Schwefligsäure-Reaktion von Belang; denn diese tritt auch mit verwandten aromatischen Aldehyden[1]), ferner selbst bei bestimmten aliphatischen Oxyaldehyden, wie den Zuckern usw.[2]), nicht ein. Den Ausschlag für die Ketonformel gab die Fähigkeit der Substanz, bei längerem Erhitzen mit p-Nitrophenylhydrazin 2 Moleküle des Reagenzes unter Bildung des

[1]) Tiffeneau und Dorlencourt, Chem. Centralblatt **1909**. I. 1335.

[2]) B. Helferich und W. Dommer, B. **53**, 2006. 1920; H. Hammarsten. Ann. **421**, 302. 1920.

Osazons aufzunehmen, und namentlich das Unvermögen des Körpers, bei Behandlung mit wasserentziehenden Mitteln in Zimtaldehyd überzugehen. Nach dem Verhalten des methylhomologen Benzaldehyd-propion-aldols, $C_6H_5 \cdot CHOH \cdot CH(CH_3) \cdot COH$, wäre diese Anhydrisierung unbedingt zu erwarten gewesen[1]). Sie vollzieht sich bekanntlich so leicht, daß bei allen bisherigen Versuchen, Benzaldehyd-acet-aldol darzustellen, sofort der ungesättigte Aldehyd, eben der Zimtaldehyd, entsteht. Daß nicht etwa das Diketon $C_6H_5 \cdot CO \cdot CO \cdot CH_3$ vorlag, ging in erster Linie aus der optischen Aktivität hervor, folgte ferner aus dem verlangsamten Eintritt des zweiten Hydrazinradikals, wie er für die Osazonbildung bei Oxycarbonylverbindungen üblich ist, und sodann aus den Reaktionen mit gewöhnlichem und geschwefeltem Semicarbazid, die nur Monoderivate lieferten, ferner auch aus dem erwähnten Verhalten gegen Fehlingsche Mischung, das besonders Substanzen mit benachbarter Stellung des CO-Restes und der Alkoholgruppe zukommt.

Die einfache phytochemische Reduktion hatten wir nun früher in mehreren Fällen[2]) rein enzymatisch, mit zellfreien Hefesäften, bewerkstelligen können. Es bestand daher die Hoffnung, auch den neuen kernsynthetischen Prozeß vollkommen mit einer Fermentlösung durchzuführen. Das gelingt in der Tat ganz glatt. Die Aufarbeitung des Reaktionsgemisches ist bei Verwendung von Hefemacerationssäften etwas schwieriger, sie liefert aber den durch Kohlenstoffketten-Verknüpfung entstandenen Körper.

Die Synthese vollzieht sich formal zwischen je einem Molekül Benzaldehyd und Acetaldehyd. Nachdem durch die Arbeiten von C. Neuberg mit E. Färber, J. Hirsch und E. Reinfurth (l. c.) die Entstehung des Acetaldehyds als Zwischenstufe bei der Vergärung des Zuckers durch lebende Hefen wie bei seiner rein enzymatischen Spaltung bewiesen worden ist, kann es keinem Zweifel unterliegen, daß das in Aktion getretene Molekül Acetaldehyd dem zerfallenen Zucker entstammt. In dieser Hinsicht stellt die Fixierung eines mol. Acetaldehyds

---

[1]) Th. Hackhofer, M. 22, 95. 1901.

[2]) Vgl. C. Neuberg und H. Steenbock, diese Zeitschr. 59, 190. 1914; C. Neuberg und W. H. Peterson, diese Zeitschr. 67, 32. 1914; C. Neuberg und F. F. Nord, diese Zeitschr. 67, 46. 1914.

durch einen zugesetzten fremden Aldehyd unter Bil dung eines Ketonalkohols eine weitere Abfangmethode, nunmehr die dritte, dar.

Neuartig ist es auch, daß es einen **Fermentprozeß** gibt, der auf den Zusammenschluß zweier Aldehyde zu einem Keton hinausläuft.

Schon im Jahre 1908 hat der eine[1]) von uns auf eine derartige physio logische Verwendungsmöglichkeit des Acetaldehyds hingewiesen. Für die Erklärung des Auftretens von Acetylmethylcarbinol bei einigen Bakteriengärungen wurde damals eine solche in vitro noch nicht verwirklichte, der Benzoinkondensation analoge Umsetzung des Acetaldehyds in Betracht gezogen. Vier Jahre später vermochten in der Tat A. Harden und D. Norris[2]) durch Züchtung von B. lactis aerogenes auf verdünnten Lösungen von Acetaldehyd kleine Mengen von 2,3-Butylenglykol zu gewinnen. Daß ein solcher zweiwertiger Alkohol aus der entsprechenden Oxycarbonylverbindung durch biochemische Reduktion hervorgehen kann, ergibt sich aus den Arbeiten von Neuberg mit Schwenk sowie mit Kerb, Nord und Färber[3]).

Die physiologische Bildung eines (optisch-aktiven) Ketonalkohols, der sich aus gleichen Molekülen Acetaldehyd und Benzaldehyd zusammensetzt, ist um so bemerkenswerter, als rein chemisch eine derartige Vereinigung nicht erfolgt und auch kein einfacher Katalysator bekannt geworden ist, der einen aliphatischen und aromatischen Aldehyd in solcher Weise aneinanderreiht. In diesen Verhältnissen liegt zugleich eine Berechtigung, die erwähnte Kohlenstoffketten-Verknüpfung gemäß unseren derzeitigen Benennungen als einen fermentativen Vorgang zu betrachten.

Freilich, es ist nicht ausgemacht, daß im vorliegenden Falle die Entstehung unseres aliphatisch-aromatischen Ketonalkohols auf die einfache „Benzoinkondensation" der formelmäßigen Komponenten zurückgeführt werden darf. In orientierenden Versuchen ist es uns nämlich bisher nicht geglückt, Benzaldehyd und fertigen Acetaldehyd mittels Hefeferment zu verbinden. Dagegen gelang

---

[1]) C. Neuberg in C. Oppenheimers Handb. der Biochemie **1**, 225. 1908.

[2]) A. Harden und D. Norris, Chem. Centralblatt **12**, I, 1045.

[3]) C. Neuberg und E. Schwenk, diese Zeitschr. **71**, 114. 1915; C. Neuberg und E. Kerb, diese Zeitschr. **92**, 96. 1918; C. Neuberg und F. Nord, B. **52**, 2248. 1919; E. Färber, F. Nord und C. Neuberg, diese Zeitschr. **112**, 313. 1920.

die Kernsynthese, wenn an Stelle des Acetaldehyds seine biologische Vorstufe, der Carboxy-acetaldehyd, d. h. Brenztraubensäure[1]), verwendet wurde. Ob die bei der Carboxylasespaltung der Brenztraubensäure obwaltende Molekülbewegung vielleicht im Verein mit einer im Entstehungszustande besonders reaktionsbereiten Form des Acetaldehyds für die Kohlenstoffketten-verknüpfung nötig ist oder ob die biologische Kondensation sich zunächst zwischen Benzaldehyd und Brenztraubensäure etwa unter Bildung von α, α_1-Benzoyl-oxy-propionsäure $C_6H_5 \cdot CO \cdot C(OH)(COOH) \cdot CH_3$ vollzieht, die dann unter Kohlensäureverlust den Ketonalkohol liefert, bleibt dahingestellt.

Fest steht, daß sowohl bei der zellfreien Vergärung von Zucker als von Brenztaubensäure wie auch bei der Umsetzung beider durch frische Hefen in Gegenwart von Benzaldehyd die Knüpfung einer unverzweigten Kohlenstoffkette zwischen Benzaldehyd und Acetaldehyd zustande kommt. Da die Reaktion auch ohne Mitwirkung ebender Zellen, also nach unserer heutigen Ausdrucksweise, rein enzymatisch herbeigeführt werden kann und ebenfalls mit anderen Aldehyden, wie Valeraldehyd, Önanthol, Zimtaldehyd usw.[2]) vor sich geht, so ist für das zugrunde liegende Agens der Name Carboligase am Platze. Bisher ist kein Ferment bekannt, das solche Körper von „Benzoinstruktur" spaltet; wir haben auch keine Anhaltspunkte dafür finden können, daß unser Ketonalkohol, fertig zugesetzt, von der Hefe in die Komponenten zerlegt würde.

Die Verhältnisse dürften bei den an Kernsynthesen und Spaltungen von Kohlenstoffketten beteiligten Katalysatoren vollkommen anders liegen als bei den hydrolysierenden Enzymen. Die Leistung der Carboligase braucht ebensowenig umkehrbar zu sein wie die der Carboxylase oder Zymase!

Dadurch unterscheidet sich der Vorgang auch scharf und grundsätzlich von der Cyanhydrinreaktion, die durch Emulsin aktiviert werden kann, und zwar nach den ausgezeichneten Untersuchungen L. Rosenthalers (1908) in asymmetrischem Sinne, indem z. B. die enzymatische Förderung

[1]) Ihre Rolle bei einer anderen biochemischen Kohlenstoffkettenvereinigung werden demnächst C. Neuberg und B. Arinstein darlegen.

[2]) Auf die entstehenden Produkte gedenken wir später einzugehen.

dieser Anlagerung d-Benzaldehydcyanhydrin ergibt. Durch die in ihrer ganzen Bedeutung für die Fermentchemie vielleicht noch nicht voll ausgeschöpften Feststellungen von G. Bredig, K. Fajans und P. S. Fiske besteht dem Wesen nach kein Unterschied mehr zwischen der diesbezüglichen Wirkung von Emulsinarten und chemisch definierten Katalysatoren; denn optisch-aktive Basen erzeugen gleichfalls drehende Oxynitrile aus den Komponenten. Es wäre denkbar, daß die Emulsinsubstanz sowohl als Ampholyt wie als unsymmetrisches Material einen Einfluß ausübt. Daß die einzelnen Emulsinsorten (sowie vielleicht Benzaldehyde verschiedener Herkunft) bald zur d-, bald zur l-, bzw. d, l-Form führen, würde mit den Erfahrungen von K. Feist über die unsymmetrische Spaltung racemischen Cyanhydrins im Einklange stehen und soll nach V. K. Krieble mit dem Gehalte des Emulsins an Teilfermenten zusammenhängen, die auf die verschiedenen natürlichen Raumformen des Amygdalins eingestellt sind. Ob es neben dem zerlegenden Agens ein ausschließlich revertierendes gibt, m. a. W., ob in Eulers Bezeichnungsweise, neben der Oxynitrilase (Benzcyanase) eine besondere Oxynitrilese vorkommt, ist ungeklärt. W. M. Bayliss sowie A. Harden lehnen jedenfalls eine solche Scheidung ab, und ersterer erklärt die scheinbaren Äußerungen von eigenen Fermenten mit entgegengesetzter Betätigung für eine Täuschung; denn bei Ausschluß sekundärer Beeinflussungen von Fermenten (oder auch vielleicht von Fermentaktivatoren, Ko-Enzymen?) soll derselbe Zustand des Gemisches beim Spaltungs- wie Anlagerungsversuch erreicht werden. Das System würde demnach durch die Gleichgewichtslage der reversiblen katalytischen Reaktionen wie bei den Hydrolysen im engeren Sinne beherrscht. In der Tat stehen die Erscheinungen bei den cyanogenen Fermenten den hydrolytischen Vorgängen nicht ganz fern, besonders wenn man berücksichtigt, daß die Zerlegung unter Wasseraufnahme die Aldehydhydrate ergibt. Durch hydrolysierende Agenzien — Alkalien und Säuren — werden die Cyanhydrine unschwer gespalten. Die Blausäureverbindungen gleichen in mancher Hinsicht den Additionsprodukten von Aminen, Alkoholen, Sulfiten, Halogenwasserstoffsäuren, Ferro-, Ferri- und Cobalti-cyanwasserstoff, Platinchloridchlorwasserstoffsäure usw. an Carbonylsubstanzen. Erinnert sei auch an die leichte Loslösung des Cyanrestes durch Silbersalze, auf der A. Wohls bekannte Abbaumethode in der Zuckerreihe sowie analytische Verfahren beruhen. Erst durch die Verseifung zur Oxysäure oder deren Amid wird die Kombination von HCN mit Aldehyden so gefestigt, daß beispielsweise das Anlagerungserzeugnis an Benzaldehyd sich unzweifelhaft nach der Struktur des α-Oxybenzylcyanids umsetzt, während vorher die Doppelverbindung den Charakter einer komplexen Säure zeigt; einen Beweis dafür haben A. Lapworth durch Herstellung des Kaliumsalzes und H. Franzen durch Gewinnung der Erdalkaliverbindungen erbracht, die bereits durch heißes Wasser in die Aldehyde und Cyanide zerlegt werden, wie Benzoxynitril selbst schon bei der Behandlung mit Wasser dissoziieren kann.

Die Verhältnisse liegen also so, daß sich Benzaldehyd und Blausäure freiwillig mit beträchtlicher Energie vereinigen; gleich in ihrer Kon-

stitution bekannten mineralischen und organischen Mittlern katalysiert auch das Emulsin diesen Vorgang. Dagegen findet keine Kohlenstoffkettensynthese zwischen Acetaldehyd und Benzaldehyd von selber statt, und wenn eine Reaktion zwischen beiden mit rein chemischen Methoden erzwungen werden kann, so führt sie zum Zimtaldehyd, nicht aber zu einer Kohlenstoffkettenvereinigung, wie sie in unserem optisch-aktivem Ketonalkohol vorhanden ist. Daß übrigens die biochemische Synthese des letzteren auch nicht dem Vorgange der oxydativen Molekülvergrößerung an die Seite gestellt werden kann, geht u. a. daraus hervor, daß sie — gleich der ihr entgegengesetzten der Gärung — anaerob verläuft.

Nicht unerwähnt bleibe, daß nach vorhandenen Anhaltspunkten neben dem Ketonalkohol noch anderer Produkte entstehen. Keiner besonderen Deutung bedarf der Umstand, daß auch bei der von uns getroffenen Versuchsanordnung, obgleich die Mengenverhältnisse etwas anders gewählt sind als in den älteren, nur auf die Gewinnung von Benzylalkohol gerichteten Experimenten von Neuberg und Welde (l. c.), die letztgenannte Substanz auftritt. Ob die unbedeutende Menge Benzoesäure, die wir gelegentlich antrafen, auf eine unspezifische Oxydation des Benzaldehyds zurückzuführen ist oder welchen Vorgängen sie ihre Entstehung verdankt — einer sekundären Zersetzung des Ketonalkohols oder Dismutation von angewandtem Benzaldehyd —, ist noch aufzuklären. Im Besitze aller dieser Daten wird man dazu gelangen, eine vollkommene Bilanz der phytochemischen Reduktion ziehen zu können. So viel aber zeigt sich schon heute, daß unsere früher ausgesprochenen Anschauungen über die Rolle des Acetaldehyds bzw. der Brenztraubensäure als primäres Oxydationsäquivalent bei der phytochemischen Reduktion sowie die Ansicht von der Verwendung beider zu synthetischen Zwecken durch die Auffindung der Carboligase eine Bestätigung gefunden haben.

Wie die Carboxylase das einfachste Enzym ist, das der Sprengung von Kohlenstoffketten dient, so ist die Carboligase ein Agens des einfachsten Aufbaues solcher Gebilde. Beide Katalysatoren haben gemeinsam eine ziemlich weite Temperaturgrenze ihrer Wirksamkeit. Im Hinblick auf die Frage, welchen Anteil die Carboligase an der biochemischen Bildung von Kohlenstoffketten nimmt, muß man die Möglichkeit nicht außer acht lassen, daß die unverzweigten Ketonalkohole durch Isomerisierung primär erzeugter Aldole

entstehen[1]) oder durch umlagernde Agenzien darin übergehen könnten[2]); Aldole vermögen aber durch eine Saccharinumlagerung Fettsäuren zu liefern[3]).

Die schlichte Beobachtung der Vorgänge in der grünen Pflanze hat bereits frühzeitig zu der Annahme geführt, daß die Assimilate, die Kohlenhydrate, im Verein mit anorganischen Stoffen das Baumaterial aller übrigen Leibessubstanzen bilden. In welcher Weise der Zucker sich dabei betätigen kann, zeigt der hier beschriebene Fall einer fermentativen Kohlenstoff-Ketten-Synthese. Es scheint uns bedeutungsvoll, daß dieselben Spaltungsprodukte, Brenztraubensäure und Acetaldehyd, die wir mit guten Gründen heute als die Abbaustufen des Zuckers bei einer Reihe biochemischer Umsetzungen — insbesondere bei der alkoholischen Zuckerspaltung sowie bei verschiedenen Pilz- und Bakteriengärungen — betrachten, auch hier beteiligt sind.

Bei den Erscheinungen der Dissimilation und des Umbaues spielt der Acetaldehyd eine ähnliche Rolle wie der Formaldehyd bei der Kohlensäure-assimilation.

Experimenteller Teil.

I. Die Auffindung der Carboligasewirkung.

II. Die chemische Natur der durch die Carboligase synthetisierten Verbindung.

a) Fällbarkeit durch Phenylhydrazin.

b) Unmittelbare Abscheidung des durch Kondensation gleicher Moleküle Acetaldehyd und Benzaldehyd bei der Gärung entstandenen Körpers.

c) Darstellung des Phenylhydrazons.

d) Isolierung des Semicarbazons.

e) Bereitung des Thiosemicarbazons.

f) Gewinnung des p-Nitrophenylosazons.

---

[1]) C. Neuberg in Oppenheimers Handb. d. Biochemie I. 224. 1909 und Ergänzungsband, S. 608. 1913; A. Fernbach und M. Schoen, Ann. Inst. Past. 28, 709. 1914.

[2]) Vgl. C. Neuberg und P. Mayer, H. 37, 530. 1902; C. L. Gatin, C. r. soc. biol. 64, 903. 1908: F. Röhmann, diese Zeitschr. 72, 26. 1916.

[3]) Siehe die in Kürze erscheinende Mitteilung von C. Neuberg und B. Arinstein.

III. Untersuchungen über das biochemische Verhalten der Carboligase.

a) Das Vorkommen der Carboligase in den einzelnen Heferassen.

b) Wirksamkeit der Carboligase bei Umsetzung verschiedener Gärsubstrate (Zuckerarten, Brenztraubensäure).

c) Die Carboligase als tätiges Enzym nach Abtrennung von der lebenden Zelle.

d) Versuche zur Verknüpfung von Acetaldehyd und Benzaldehyd ohne gleichzeitig ablaufende Gärungen.

e) Über den Zusammenhang zwischen Zucker- oder Brenztraubensäurespaltung und synthetischer Leistung.

I. Die Auffindung der Carboligasewirkung.

Zu einem Ansatz von 280 g Rohrzucker und 280 g obergärige Hefe (Senst) in 7 l Wasser wurden nach dem Angären 25 ccm frisch destillierter, benzoesäurefreier Benzaldehyd gefügt. Das Gemenge, das bei Zimmertemperatur belassen wurde, wies am nächsten Tage nur noch einen spurenhaften Geruch nach Bittermandelöl auf. Nach Zugabe von weiteren 15 ccm Benzaldehyd blieb das Gärgut noch 48 Stunden bis zum Aufhören der Kohlensäureentwicklung und bis zum Verschwinden des Benzaldehydgeruches stehen. Bei der Prüfung mit Fehlingscher Mischung auf etwa noch vorhandenen Zucker machte sich eine starke Reduktionswirkung geltend, die auffallenderweise nach kurzem Stehen schon in der Kälte einsetzte. Da jedoch die Seliwanoffsche Reaktion mit dem Gärgut negativ verlief und zugefügte frische Hefe keine Gärung mehr hervorzurufen vermochte, so war aller Zucker umgesetzt und der positive Ausfall der Fehlingschen Probe lediglich durch die Anwesenheit einer bisher noch nicht beobachteten Substanz bedingt, deren Auftreten mit der phytochemischen Umwandlung des Benzaldehyds in irgendeinem Zusammenhange stehen mußte.

Neben der Reduktionsprobe gab die ausgegorene Maische eine positive Nitroprussidreaktion und lieferte mit essigsaurem Phenylhydrazin einen flockigen Niederschlag, der von dem Phenylhydrazon unveränderten Benzaldehyds völlig verschieden war,

da er, mit 30%iger Schwefelsäure erhitzt, kein Bittermandelöl abspaltete, ferner weit niedriger schmolz und in organischen Lösungsmitteln optisch aktiv war. Auch das Gärgut selbst zeigte deutliches Drehungsvermögen; es war lävogyr.

Wir versuchten zunächst die fragliche Substanz mittels Wasserdampfdestillation aus dem Gärgut abzusondern. 1,5 l desselben wurden dementsprechend behandelt, bis das doppelte Volumen übergegangen war. Das Destillat reduzierte Fehlingsche Lösung, gab positive Legalsche Reaktion und lenkte das polarisierte Licht nach links ab. Da jedoch auch der Rückstand noch die gleichen Eigenschaften besaß, so erwies sich die gesuchte Verbindung als schwer flüchtig und auf diese Weise nur als unvollständig abtrennbar.

Für die Isolierung ist die Extraktion mit Äther zweckmäßig, da es gelingt, durch 3—4 maliges Ausziehen die reduzierende Substanz nahezu restlos aus dem Gärgut zu gewinnen. 3 l desselben wurden so oft mit Äther durchgeschüttelt, bis der Rückstand Fehlingsche Mischung auch beim Kochen nicht mehr reduzierte. Nach Verjagen des Äthers auf dem Wasserbade hinterblieb ein hellgelbes Öl, dem neben dem charakteristischen Geruch des Benzylalkohols ein etwas stechender Geruch anhaftete. Dieses Öl war in Wasser fast gar nicht, in organischen Solventien (mit Ausnahme von Petroläther und Ligroin) leicht löslich, gab eine stark positive Nitroprussidreaktion und schied aus Fehlingscher Lösung schon in der Kälte augenblicklich Kupferoxydul ab. 0,1 ccm in 10 ccm absoluten Alkohol gelöst hatten ein Drehungsvermögen von — 0,75° im 1-dcm-Rohr. Nach tagelangem Aufbewahren im Exsiccator zeigte das Öl keinerlei Neigung zum Krystallisieren; es machte sich jedoch beim Verweilen an der Luft mit der Zeit ein zunehmender Geruch nach Benzaldehyd bemerkbar, der das Zeichen einer Zersetzung und zugleich auch einen Hinweis auf die Herkunft der Substanz aus dem Bittermandelöl bildete.

II. Die chemische Natur der durch die Carboligase synthetisierten Verbindung.

a) Fällbarkeit durch Phenylhydrazin.

Zur ersten Charakterisierung der neuen Substanz schien uns das bei Behandlung mit essigsaurem Phenylhydrazin erhältliche Derivat geeignet. Neues Material bereiteten wir diesmal unter Verwendung einer untergärigen Heferasse.

Das Gärgut enthielt 300 g Rohrzucker und 300 g Hefe (untergärige Bierhefe des Berliner Instituts für Gärungsgewerbe) in 7,5 l Wasser. Nach erfolgter Angärung wurden 30 ccm frischfraktionierten Benzaldehyds hinzugefügt und das Gemisch 3 Tage bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Die Beendigung der Gärung stellten wir jetzt, wie in den späteren Saccharose-versuchen, durch den negativen Ausfall der Fehlingschen Reaktion in einer Probe fest, die zuvor viermal mit Äther extrahiert worden war. Von der klar filtrierten ausgegorenen Maische wurden 3000 ccm mit einer Lösung von essigsaurem Phenylhydrazin versetzt, die auf 1 Teil dieser Base 2 Teile 33 proz. Essigsäure enthielt. Es bildete sich alsbald eine weiß-gelbe Emulsion, die sich beim Stehen zu einem flockigen Niederschlage verdichtete. Dieser wurde abgenutscht, mit verdünnter Essigsäure, dann mit Wasser ausgewaschen und über Schwefelsäure im Exsiccator getrocknet. Das so erhaltene Produkt war in Wasser unlöslich, ging aber in Alkohol, Äther und Benzol leicht über. Die alkoholische und ätherische Lösung drehten das polarisierte Licht beträchtlich nach rechts, die benzolische nach links, ein Verhalten, auf das wir bei der Besprechung weiterer Versuche noch zurückkommen werden.

Die Umkrystallisation war durch die Neigung zu öliger Ausscheidung erschwert, besonders bei der Anwendung von verd. Alkohol. Als am geeignetsten erwies sich die Isolierung der Substanz aus benzolischer Lösung durch Beigabe von Petroläther, doch muß letzterer zur Vermeidung einer Verschmierung tropfenweise zugefügt werden. Nach wiederholtem Umkristallisieren aus Benzol-Petroläther erhielten wir kleine weiße Blättchen, die scharf bei 96° schmolzen.

0,1496 g Substanz: 0,4111 g CO_2 und 0,0918 g H_2O.
0,1435 g Substanz: 14,4 ccm N (20°, 766 mm).

Daraus ergibt sich C = 74,94%, H = 6,81% und N = 11,56%. Die gefundenen Zahlen stimmen für ein Produkt von der Zusammensetzung $C_{15}H_{16}ON_2$; diese verlangt:

C = 75,00%, H = 6,67% und N = 11,67%.

Es handelt sich also um das Phenylhydrazon eines Körpers $C_9H_{10}O_2$, der durch einen Zusammentritt gleicher Moleküle Benzaldehyd und Acetaldehyd entstanden erscheint, wobei die Frage nach der Konstitution — Aldol- oder Benzoinform — zunächst noch offen blieb. Zur Entscheidung zwischen beiden Möglich-

keiten haben wir versucht, durch die Einwirkung von Kaliumacetat bei 120° im zugeschmolzenen Rohr auf den weitgehend gereinigten Körper (s. u.) den ungesättigten Zimtaldehyd zu erhalten. Es waren jedoch nach 4stündiger Digerierung nicht einmal Spuren dieser Substanz nachzuweisen, die sich schon durch den charakteristischen Geruch hätten bemerkbar machen müssen.

Später (s. S. 301) gelang es, das p-Nitrophenylosazon, also eine Verbindung mit zwei Hydrazinresten, darzustellen und so den Beweis für den „Benzoincharakter" der Substanz zu erbringen, wobei wir jedoch zwischen den beiden Isomeren $C_6H_5 \cdot CO \cdot \overset{*}{C}HOH \cdot CH_3$ und $C_6H_5 \cdot \overset{*}{C}HOH \cdot CO \cdot CH_3$ vorerst keine bestimmte Auswahl treffen wollen.

b) Unmittelbare Abscheidung des durch „Kondensation" gleicher Moleküle Acetaldehyd und Benzaldehyd bei der Gärung entstandenen Körpers.

Die nächsten Versuche waren darauf gerichtet, die durch ihr Phenylhydrazon in ihrer Zusammensetzung erkannte Substanz möglichst rein darzustellen.

Zu der Lösung von 600 g Rohrzucker in 15 l Wasser wurden 600 g Hefe Senst und alsbald 60 ccm Benzaldehyd gegeben. Nach 3tägiger Aufbewahrung bei Zimmertemperatur wurde ein Quantum von 12,5 l filtrierten Gärgutes mit Äther erschöpfend ausgezogen, das Lösungsmittel nach Trocknung über geglühtem Glaubersalz auf dem Wasserbade verjagt, und der Rückstand im Vakuum destilliert. Bei 15 mm ging — weit oberhalb des Siedepunktes von Benzaldehyd — zwischen 102—156° eine ölige Flüssigkeit über, ohne daß es trotz wiederholter Rektifikation glückte, innerhalb engerer Temperaturgrenzen sich verflüchtigende einheitliche Fraktionen zu isolieren. Bei erneuter Destillation unter Atmosphärendruck haben wir sodann zwischen 202° und 262° in willkürlich gewählten Abständen von je 10° sechs Einzelportionen aufgefangen, von denen die zwischen 223—232° und die zwischen 253—262° siedende der Elementaranalyse unterworfen wurden. Nur die für die letztere gefundenen C- und H-Zahlen standen jedoch mit den Werten für die Substanz $C_9H_{10}O_2$ einigermaßen in Einklang.

Fraktion 253—262°.

0,1658 g Substanz: 0,4472 g CO_2 und 0,1049 g H_2O.

Berechnet für $C_9H_{10}O_2$: C = 72,00%; H = 6,67%; gef. C = 73,56%; H = 7,03%.

Bessere Resultate hat später mit der über die Bisulfitverbindung gereinigten Substanz Herr Dr. Ohle erzielt, der mit der weiteren Untersuchung beschäftigt ist.

Übrigens hat auch K. v. Auwers[1]) bei der auf chemischem Wege dargestellten Racemform dieses Körpers oder seines Isomeren keine ganz scharfen Daten erhalten.

Die Verbindung löst sich außer in Alkohol und Äther in Benzol, Toluol, Chloroform, Schwefelkohlenstoff sowie Essigester, dagegen nicht oder kaum in Petroläther und Ligroin. Beim Erhitzen mit Natronlauge erfolgt Dunkelfärbung und Entwicklung von Benzaldehydgeruch; Sodalösung wirkt ebenso, aber weniger verfärbend.

Wie schon mehrfach erwähnt, reduziert der Ketonalkohol Fehlingsche Mischung augenblicklich bei gewöhnlicher Temperatur. Aus Ostscher Lösung sowie aus Cupriacetat wird jedoch nur in der Siedehitze Kupferoxydul abgeschieden; hingegen wird ammoniakalisch-alkalische Silberlösung in der Kälte sofort geschwärzt. Das gleichfalls bereits angeführte Verhalten zu Nitroprussidnatrium gestaltet sich im einzelnen folgendermaßen: a) Bei der gewöhnlichen Legalschen Probe (Zusatz von Nitroprussidnatrium und Lauge) wird das Gemisch rotbraun und auf Zugabe von Essigsäure blauviolett. b) Nimmt man an Stelle der Lauge Ammoniak, so tritt eine nicht übermäßig starke kirschrote Färbung ein, die auf Essigsäurezusatz ins Blaue umschlägt und schnell verblaßt. c) Wählt man als basische Komponente Piperidin, so wird das Gemenge feurig-amarantrot, um nach Ansäuerung mit Essigsäure sich über Blau ebenfalls zu entfärben.

Die Beziehungen unseres Ketonalkohols zum Benzaldehyd ergaben sich auch daraus, daß nach Zufügen von verdünnter Permanganatlösung und Erhitzen sich zunächst ein Geruch nach Bittermandelöl verbreitete. Das eingeengte Filtrat von Braunstein schied nach Ansäuerung reichliche Mengen Benzoesäure ab.

Wir haben mit den Ätherextrakten verschiedener Gäransätze wiederholt den Versuch gemacht, die bei der phytochemischen Umsetzung des Benzaldehyds auftretenden Erzeugnisse durch einfache fraktionierte Destillation vollkommen zu trennen, jedoch

---

[1]) K. v. Auwers, B. 50, 1177. 1917.

ohne Erfolg. Bei den verschiedensten Drucken erstreckte sich stets der Destillationsbereich des Gemisches vom Siedepunkt des Benzylalkohols ab kontinuierlich über etwa 50°, und alle von uns in beliebigen Zwischenräumen aufgefangenen Anteile zeigten die für unsere Substanz als charakteristisch erkannte Reduktionskraft gegen kalte Fehlingsche Lösung und ein nach links gerichtetes optisches Drehungsvermögen, das in seinem Umfang mit steigendem Siedepunkte zunahm, dann jedoch bei der höchsten Fraktion wieder sank. Wir haben darauf versucht, den Körper durch seine — übrigens krystallisierende — Bisulfitverbindung von dem durch phytochemische Reduktion entstandenen Benzylalkohol und anderen Stoffen abzutrennen. Hierbei ging jedoch ein Teil unserer Substanz, deren Ausbeute sich durch die Gewichte der über dem eigentlichen Siedepunkte des Benzylalkohols liegenden Fraktionen und des daraus gewonnenen Osazons sowie durch die optischen Drehungswerte einigermaßen abschätzen ließ, infolge Zersetzung verloren.

Leichter gelang es uns, das Produkt durch eine Reihe von Abkömmlingen sicher zu kennzeichnen und uns in diesen Derivaten brauchbare Handhaben für die Lösung verschiedener biochemischer Fragestellungen zu schaffen.

c) Darstellung des Phenylhydrazons.

Zunächst mußte sich das zuvor beschriebene, stark optisch aktive Phenylhydrazon, das wir bis dahin nur durch direkte Fällung aus dem Gärgut selbst dargestellt hatten, auch aus dem verdampften ätherischen Auszuge gewinnen lassen.

600 g Hefe (Senst) wurden in 15 l Wasser suspendiert, die 600 g Rohrzucker gelöst enthielten. Nachdem die Kohlensäureentwicklung eingesetzt hatte, trugen wir 60 g reinen Benzaldehyd ein, digerierten 4 Tage bei Zimmertemperatur und weitere 24 Stunden bei 37° bis zum völligen Verbrauch des Zuckers. 11 l der klar filtrierten Maische wurden mit Äther ausgeschüttelt, die Extrakte durch Abdampfen vom Lösungsmittel befreit und vereint der Destillation unter vermindertem Druck unterworfen. Bei 16—17 mm gingen über:

zwischen	94—115°	19,28 g,
„	116—139°	22,29 g,
„	140—156°	5,82 g,
	insgesamt	47,39 g.

Alle drei Fraktionen zeigten in der Kälte augenblicklich einen positiven Ausfall der Fehlingschen Reaktion und waren lävogyr. 1 g der mittleren Fraktion (116—139°) wurden in wenigen ccm reinen Alkohols gelöst und mit Wasser zu einer homogenen Emulsion verdünnt, aus der mittels einiger ccm essigsauren Phenylhydrazins ein gelblicher Niederschlag ausgefällt wurde. Nach wiederholtem Umkrystallisieren aus Benzol-Petroläther erhielten wir das Hydrazon in weißen Krystallen vom Schmelzpunkte 96°.

0,1486 g Substanz: 0,4068 g CO_2 u. 0,0924 g H_2O.
$C_{15}H_{16}ON_2$. Ber. C = 75,00%; H = 6,67%;
gef. C = 74,66%; H = 6,93%.

Bestimmung der Drehung:

0,067 g Substanz, in 10 ccm Benzol gelöst, zeigten im 2-dcm-Rohr − 2,20°;

$$[\alpha]_D = -164,2°.$$

0,042 g Substanz, in 10 ccm abs. Alkohol gelöst, polarisierten im 2-dcm-Rohr = + 1,83°;

$$[\alpha]_D = +217,8°.$$

Zur Kontrolle dieser Daten wurde aus 3 l desselben Ansatzes in gleicher Weise, wie schon eingangs (s. S. 295) beschrieben ist, durch direkte Ausfällung mit essigsaurem Phenylhydrazin das optisch-aktive Hydrazon dargestellt, das den Smp. 96° hatte.

0,1396 g Substanz: 13,2 ccm N (12° und 764 mm).
$C_{15}H_{16}ON_2$. Ber. N = 11,67%; gef. N = 11,28%.

Bestimmung der optischen Drehung:

Für 0,216 g Substanz, in 10 ccm Benzol gelöst, war im 2-dcm-Rohr α = − 7,30°;

$$[\alpha]_D = -169,0°.$$

0,426 g Substanz, in 10 ccm abs. Alkohol gelöst, drehten im 2-dcm-Rohr = + 18,17°;

$$[\alpha]_D = +213,3°.$$

Die Elementaranalyse und die Übereinstimmung des aus dem Ätherextrakt dargestellten Phenylhydrazons in seinen charakteristischen Konstanten[1]) (z. B. in den Drehungswerten usw.) mit dem aus dem Gärgut direkt gewonnenen Derivat zeigen die Identität beider Verbindungen an.

[1]) Ob die optisch-aktive Komponente völlig frei vom Racemkörper ist, läßt sich nicht angeben.

d) Isolierung des Semicarbazons.

1,2 g Semicarbazidchlorhydrat wurden in wenig Wasser gelöst, mit 1,2 g Kaliumacetat in alkoholischer Lösung sowie mit 1,5 ccm des im Vakuum übergetriebenen Erzeugnisses der biochemischen Reaktion (Kp_{16} 116—139°) versetzt. Nach einiger Zeit fiel beim Stehen in der Kälte ein weißer krystallinischer Niederschlag aus, der abgenutscht und getrocknet wurde. Die gewonnene Substanz schied sich gut aus absolutem Alkohol ab und zeigte nach wiederholter Krystallisation den konstanten Schmelzpunkt 189°.

0,2013 g Substanz: 33,5 ccm N (14° und 762 mm).

$C_{10}H_{13}O_2N_3$. Ber. N = 20,28%; gef. N = 19,64%.

Ferner haben wir ein Gemisch der niedriger und höher siedenden Fraktion des Rohproduktes gleichfalls auf das Semicarbazon verarbeitet. Wir erhielten es wiederum nach mehrmaligem Umkristallisieren in Blättchen vom Schmelzpunkt 188—189°.

0,1513 g Substanz lieferten 0,3206 g CO_2 und 0,0759 g H_2O.

$C_{10}H_{13}O_2N_3$. Ber. C = 57,97 %; H = 6,28 %;
gef. C = 57,79 %; H = 5,61%.

Das Semicarbazon wurde in beiden Fällen wie auch bei späteren Präparationen optisch inaktiv befunden. Es stimmt in seinem Schmelzpunkte mit dem von K. v. Auwers (l. c.) erwähnten Abkömmling des α-Oxypropiophenons $C_6H_5 \cdot CO \cdot CHOH \cdot CH_3$ überein.

e) Bereitung des Thiosemicarbazons.

Als weiteres Derivat der durch das Dinitroosazon (s. S. 301) als α, β-Ketonalkohol charakterisierten Substanz haben wir noch das Thiosemicarbazon dargestellt.

1,0 g Thiosemicarbazid wurden in der nötigen Menge siedenden Wassers gelöst und mit 1,9 ccm der Fraktion II (Kp_{16} 116—139°) des letzt beschriebenen Gärgutes versetzt. Bei Durchschütteln oder auf Zugabe von wenig Sprit erstarrte die Mischung sofort zu einer festen Krystallmasse, die in Wasser unlöslich und in heißem Alkohol löslich war. Nach Umkrystallisation aus absolutem Alkohol erhielten wir weiße Nädelchen, die bei 204—205° (bei schnellem Erhitzen) unter Zersetzung schmolzen.

0,1310 g Substanz: 21,0 ccm N (18°, 770 mm).

0,1488 g Substanz: 0,2954 g CO_2 und 0,0767 g H_2O.

0,1362 g Substanz: 0,1402 g $BaSO_4$ (= 0,01922 g S).

$C_{10}H_{13}N_3OS$. Ber. C = 53,81; H = 5,82; N = 18,83; S = 14,35%;
gef. C = 54,14; H = 5,77; N = 18,67; S = 14,10%.

Das Thiosemicarbazon zeigte die von C. Neuberg und W. Neimann[1]) beobachtete Fähigkeit dieser Verbindungen, unlösliche Niederschläge mit Metallsalzen, namentlich mit Silbernitrat und Sublimat in alkoholischer Lösung, zu geben. Das Thiosemicarbazon ist ein besonders leicht entstehendes, ausgezeichnet krystallisierendes und charakteristisches Derivat des Ketonalkohols.

f) Gewinnung des p-Nitrophenylosazons.

Das Ausgangsmaterial war auf die mehrfach dargelegte Weise bei Vergärung von 1 kg Saccharose in 25 l Wasser mit 1 kg Patzenhofer Unterhefe in Anwesenheit von 100 g Benzaldehyd erhalten. Von dem filtrierten Gärgut wurden 23 l verarbeitet, der Rückstand des Ätherextraktes wurde in folgende Anteile zerlegt:

Fraktion I:	bei 15 mm	85— 98°	3,50 g,
„ II:	„ 15 mm	99—110°	27,31 g,
„ III:	„ 15 mm	111—120°	28,42 g,
„ IV:	„ 14 mm	121—135°	33,26 g,
„ V:	„ 13—14 mm	136—147°	17,92 g,
Gesamtausbeute aus 97 g Benzaldehyd			= 110,41 g.

4,5 g p-Nitrophenylhydrazin wurden in 25proz. Essigsäure, der einige ccm abs. Alkohol zugesetzt waren, in der Hitze gelöst. Zu der klar filtrierten Flüssigkeit wurden 1,7 ccm der Fraktion IV gegeben. Nach $2^1/_2$stündigem Erhitzen im Wasserbade war ein dunkelroter Niederschlag ausgefallen, der auf der Nutsche mit verdünnter Essigsäure, dann mit Alkohol und Äther gewaschen wurde. Die entstandene Substanz (Rohausbeute 2,5 g) war leicht löslich in Pyridin sowie in heißem Nitrobenzol, schwer löslich in siedendem Eisessig, unlöslich in Wasser, Alkohol und Äther. Nach wiederholtem Umkrystallisieren aus einem Gemisch von Nitrobenzol und Eisessig bekamen wir purpurrote Nädelchen, die sich bei 264—265° verflüssigten und somit denselben Schmelzpunkt hatten, wie das von K. v. Auwers[2]) dargestellte p, p-Dinitroosazon des Acetyl-benzoyls.

0,1666 g Substanz: 0,3675 g CO_2 und 0,0658 g H_2O.
0,1552 g Substanz: 26,6 ccm N (19°, 766 mm).
$C_{21}H_{18}N_6O_4$. Ber. C = 60,28%; H = 4,30%; N = 20,09%;
gef. C = 60,16%; H = 4,38%; N = 19,86%.

[1]) C. Neuberg und W. Neimann, B. 35, 2049. 1902.
[2]) l. c. S. 1178; an anderer Stelle (l. c. 1181) findet man freilich 256—257° als F. verzeichnet.

1,7 ccm der Fraktion V, die in gleicher Weise mit p-Nitrophenylhydrazinacetat behandelt wurden, lieferten eine Rohausbeute von 1,3 g Osazon. Wir lösten die Substanz in Pyridin und schlugen sie mit verdünnter Essigsäure nieder. Nach wiederholtem Umfällen lag gleichfalls das Produkt vom Smp. 264—265° vor.

III. Untersuchungen über das biochemische Verhalten der Carboligase.

Das Auftreten eines optisch-aktiven Kondensationsproduktes von Benzaldehyd und Acetaldehyd bei der alkoholischen Gärung in Gegenwart von Bittermandelöl wies auf die Beteiligung eines aufbauenden Agens hin. Offensichtlich steht die Bildung der Substanz in naher Beziehung zur Tätigkeit der Zymase. Denn der Acetaldehyd, über den als Zwischenstufe erwiesenermaßen die alkoholische Zuckerspaltung führt, dient — wenigstens formal — als Baustein für jene Synthese.

Wir vermögen die allgemeine Bedeutung der Carboligase einerseits durch ihr Vorkommen in verschiedenen Heferassen und andererseits durch die Verwendung wechselnder Gärsubstrate zu erweisen. Der „Fermentcharakter" dürfte aller Unsicherheit dadurch entrückt werden, daß wir die synthetisierende Kraft auch für zellfreie Auszüge, also nach Abtrennung von den lebenden Erregern, dartun konnten.

a) Das Vorkommen der Carboligase in den einzelnen Heferassen.

Wir haben die Carboligase in sämtlichen uns zugänglichen Hefesorten feststellen können. In den vorher beschriebenen Versuchen haben wir Oberhefe der Brauerei Senst und die untergärigen Rassen des Instituts für Gärungsgewerbe sowie der Patzenhofer Brauerei mit Erfolg benutzt, ebenso später Trockenpräparate aus dem obergärigen Stamm der Brauereien Engelhardt und Senst. Alle diese Varietäten zeigten bei der Gärung in Gegenwart von Benzaldehyd das Vermögen, Kohlenstoff an Kohlenstoff zu ketten.

b) Wirksamkeit der Carboligase bei Umsetzung verschiedener Gärsubstrate.

Da die Aufspaltung der vergärbaren Kohlenhydrate letzten Endes über die Glieder der Brenztraubensäure und des Acetal-

dehyds verläuft, so war zu erwarten, daß die Carboligase, die den intermediär auftretenden Acetaldehyd infolge der biologischen Synthese festhält, auch beim Wechsel mit den Gärsubstraten in Erscheinung tritt. Diese Annahme bestätigte sich durch den folgenden Versuch, zu welchem Glucose statt des bisher verwendeten Rohrzuckers diente. Später (s. S. 308) wird gezeigt, daß Brenztraubensäure die Kohlenhydrate bei dieser Reaktion ersetzen kann.

Das Gärgut enthielt 1200 g Stärkesirup[1]) und 1 kg Hefe Engelhardt in einem Gesamtvolumen von 25 l. Nachdem die Kohlendioxydentwicklung eingetreten war, wurden 80 ccm Benzaldehyd zugefügt. Nach 3tägigem Stehen bei Zimmertemperatur war die Gärung beendet.

Von dem filtrierten Gärgut wurden 2 l mit essigsaurem Phenylhydrazin versetzt und eine Rohausbeute von 4,5 g Phenylhydrazon erhalten, das aus Benzol-Petroläther umkrystallisiert wurde und bei 96° schmolz.

0,2639 g, in 10 ccm Benzol gelöst, drehten im 1-dcm-Rohr = − 4,72°;

$$[\alpha]_D = -178{,}85°.$$

0,2698 g, in 10 ccm abs. Alkohol gelöst, zeigten im 1-dcm-Rohr Rechtsdrehung = + 6,11°;

$$[\alpha]_D = +226{,}46°.$$

21,4 l Filtrat wurden ausgeäthert und nach Abdampfen des Äthers rektifiziert.

Fraktion					
Fraktion I	sott	bei	12 mm	bis 80°	(Vorlauf),
„ II	„	„	12 „	81—100°	16 g,
„ III	„	„	12 „	101—110°	35 g,
„ IV	„	„	12 „	111—125°	16,3 g,
„ V	„	„	12 „	126—150°	19,3 g.

Portion I und II reduzierten Fehlingsche Lösung in der Wärme, während die übrigen Anteile dies schon in der Kälte taten.

Die optische Untersuchung der drei höchsten Fraktionen (je 0,10 g in 5,0 ccm Alkohol gelöst) ergab im 1-dcm-Rohr folgende Werte:

für Fraktion III	− 0,71°,
„ „ IV	− 1,80°,
„ „ V	− 0,66°.

[1]) Wir verwendeten ihn des Preises wegen statt reinen Traubenzuckers.

c) Die Carboligase als tätiges Enzym nach Abtrennung von der lebenden Zelle.

Bei der biochemischen Anlagerung von Acetaldehyd an Benzaldehyd gelang es uns, den enzymatischen Charakter der Reaktion dadurch nachzuweisen, daß sich der von frischer Hefe hervorgebrachte Ketonalkohol auch bei zellfreier Vergärung mittels Hefemacerationssäften gewinnen ließ.

a) 4900 g Trockenhefe Senst (die wir 6 Monate vorher präpariert hatten) wurden in 15 l Wasser von 40° eingerührt und $2^1/_2$ Stunden bei 37° im Brutschrank belassen. Durch Filtration wurden 5175 ccm klarer Saft gewonnen. Diese wurden mit einer Lösung von 730 g Rohrzucker auf ein Gesamtvolumen von 5875 ccm gebracht und in einen Brutschrank von 37° gestellt. Sobald die Kohlensäureentwicklung im Gange war, wurden 75 ccm frisch destillierter Benzaldehyd hinzugefüllt, wodurch die Gärung nicht unterbrochen wurde. Nach 6 Stunden sowie nach weiteren 24 Stunden wurde nochmals je 5 ccm Benzaldehyd nachgegeben. Nach insgesamt 4 Tagen war die Umsetzung beendet. Das Gärgut wurde zur Koagulation des Eiweißes auf dem Wasserbade erhitzt, der Niederschlag abfiltriert und das Filtrat ausgeäthert. Es hinterblieb nach Abdampfen des Äthers ein Rückstand von ca. 30 ccm; dieser reduzierte Fehlingsche Lösung momentan bei Zimmertemperatur und roch nur schwach nach Bittermandelöl. Durch Destillation im Vakuum wurden bei 10 mm Druck folgende Fraktionen aufgefangen:

Fraktion	I	bis 83°	0,49 g (Vorlauf),
„	II	84—100°	4,83 g
„	III	101—110°	6,80 g
„	IV	111—130°	10,65 g
„	V	131—155°	1,96 g

Mit Ausnahme der ersten Fraktion, die dem Geruche nach zu urteilen, hauptsächlich Benzaldehyd enthielt, gaben alle anderen Anteile eine positive Fehlingsche Reaktion in der Kälte. Bei der optischen Untersuchung zeigten die Portionen II bis IV (je 1,0 ccm in 5,0 ccm absolutem Alkohol gelöst) im l-dcm-Rohr keine Ablenkung. 1,0 ccm der Fraktion V, in 5,0 ccm absolutem Alkohol gelöst, drehte unter gleichen Umständen nach links, und zwar = — 1,0°.

Zum Nachweise der Carboligasewirkung im zellfreien Mace-

rationssafte stellten wir aus Fraktion IV das Phenylhydrazon dar. 5 ccm wurden in Wasser suspendiert und mit einer Lösung von 5 ccm Phenylhydrazin in 15 ccm 33proz. Essigsäure versetzt. Der sich bildende Niederschlag wurde wiederholt aus Benzol-Petroläther umkrystallisiert. Wir erzielten das reine Produkt vom Smp. 96°, dessen alkoholische sowie benzolische Lösung jedoch optisch inaktiv war.

0,1513 g Substanz gaben: 0,4167 g CO_2 und 0,0933 g H_2O.
$C_{15}H_{16}ON_2$. Ber. C = 75,00%; H = 6,67%;
gef. C = 75,11%; H = 6,85%.

Worauf die Bildung eines inaktiven Kondensationsproduktes bei der zellfreien Gärung im Gegensatz zur Entstehung einer aktiven Form bei der Gärung mit lebenden Hefen zurückzuführen ist, können wir nicht sagen. Möglicherweise kommt eine Pseudomerisierung zum Dioxy-propenyl-benzol:

$$C_6H_5 \cdot CO \cdot CHOH \cdot CH_3 \rightarrow C_6H_5 \cdot C(OH) : C(OH) \cdot CH_3,$$

die der Enolbildung der Ketozucker[1]) oder den Beziehungen[2]) zwischen Glycolaldehyd-dicarbonsäure und Dioxy-maleïnsäure entspricht, in Betracht.

Daß die Art der Aufarbeitung, wenigstens das Erhitzen des Gärgutes zur Ausfällung des Eiweißes, keinen Einfluß auf die optischen Eigenschaften unseres Ketonalkohols ausübt, stellten wir durch analoge Behandlung von aktivem Ketonalkohol fest, der durch einen Gärversuch mit frischer Hefe gewonnen war. Auch an einer Besonderheit der verwendeten Trockenhefe liegt dies Verhalten nicht, wie folgender Versuch lehrt:

β) Aus 4 kg Trockenhefe Engelhardt wurden 4907 ccm Saft gewonnen, der mit einer Lösung von 800 g Rohrzucker in 700 ccm Wasser vermischt wurde. Nach dem Angären (bei 37° im Brutschrank) wurden 25 ccm Benzaldehyd und nach weiteren 7 Stunden nochmals 10 ccm Benzaldehyd zugesetzt. Nach 72 Stunden war die Gärung erloschen. Durch Erwärmung wurde wiederum das Eiweiß zum Gerinnen gebracht, das klare Filtrat dann mit Äther ausgeschüttelt, der Äther abgedampft und der Rückstand im Vakuum destilliert. Bei 10 mm wurden folgende Fraktionen aufgefangen:

---

[1]) A. Wohl und C. Neuberg, B. 33, 3099. 1900:
$R \cdot CO \cdot CH(OH)H \rightarrow R \cdot C(OH) : CH(OH)$.

[2]) $CO_2H \cdot CO \cdot CHOH \cdot COOH \rightarrow CO_2H \cdot C(OH) : C(OH) \cdot CO_2H$.

Fraktion	I	80—100°	6,78 g,
„	II	101—110°	10,55 g,
„	III	111—120°	6,68 g,
„	IV	121—130°	4,05 g.

Die Prüfung mit Fehlingscher Mischung ergab für Portion I eine positive Reaktion beim Kochen, während die übrigen Fraktionen schon in der Kälte reduzierten. Sämtliche Anteile waren optisch unwirksam.

Für optisches aktives Benzoin, das vom drehenden Mandelsäureamid aus mit Phenylmagnesiumbromid zugänglich ist, zeigte H. Wren[1]), daß es durch mannigfache Einflüsse leicht racemisiert wird; diese Substanz kann mit unserem Ketonalkohol durchaus verglichen werden.

Aus 5 g der Fraktion III wurden durch Einwirkung von essigsaurem Phenylhydrazin 4,5 g Hydrazon erhalten, das nach dem Umkrystallisieren aus Benzol-Petroläther scharf bei 96° schmolz.

Wir konnten somit in den gärwirksamen Auszügen aus zwei verschiedenen Hefesorten die Carboligasewirkung nachweisen.

d) Versuche zur Verknüpfung von Acetaldehyd und Benzaldehyd ohne gleichzeitig ablaufende Gärungen.

Nachdem wir so die Carboligase als Ferment charakterisiert hatten, versuchten wir, die Synthese unabhängig von dem Gärungsvorgange direkt mit den beiden Komponenten Benzaldehyd und Acetaldehyd durchzuführen.

α) $1^1/_2$ l klarer Macerationssaft aus Sensthefe wurden mit 10,6 g Benzaldehyd und 4,4 g Acetaldehyd sechs Tage lang bei 37° im Brutschrank belassen. Zur Gewinnung unserer alkohollöslichen Substanz und zur Entfernung des Eiweißes wurde das Gemisch im Faust-Heimschen Apparat bei 35° eingeengt und sodann die trockene Masse in absolutem Sprit auf dem Wasserbade extrahiert. Nachdem der Weingeist unter vermindertem Druck abgedampft war, wurde der Rückstand nochmals mit Alkohol aufgenommen und mit dem doppelten Volumen Äther versetzt. Dabei fiel ein unlöslicher Niederschlag aus, der entfernt wurde. Diese Behandlung wurde nochmals wiederholt, sodann der Alkohol-Ätherauszug abdestilliert und der Rückstand im Vakuum fraktioniert. Es gingen bei 120—135° und 15 mm Druck nur wenige Tropfen eines gelben Öles über, die Fehlingsche Lösung nicht reduzierten und optisch inaktiv waren.

[1]) H. Wren, Journ. Chem. Soc. 95, 1593. 1909.

Da nicht von vornherein feststand, ob der negative Ausfall dieses Ansatzes nicht auf eine Vergiftung des empfindlicheren Fermentsaftes durch die zugesetzten Aldehyde zurückzuführen war, haben wir einen entsprechenden Versuch mit lebender Hefe angestellt.

β) 450 g frische Oberhefe (Senst) wurden in 15 l Wasser suspendiert, die als Nährsalze 36 g Ammoniumsulfat, 18 g Dinatriumphosphat sowie Spuren KCl und $MgSO_4$ enthielten. Eine Probe dieser Hefeaufschwemmung erwies sich als gärtüchtig. Wir gaben sodann 22,5 g Benzaldehyd und 9,4 g Acetaldehyd hinzu und kontrollierten den Eintritt einer etwaigen Synthese durch die Prüfung des optischen Verhaltens. Nach 24 Stunden war die Drehung der filtrierten Maische im 2-dcm-Rohr 0, obwohl die Hefe lebensfähig geblieben war, da eine Probe, mit Zucker gemengt, in Gärung geriet. Nach 48 Stunden waren wir gezwungen, wegen offensichtlicher Vergiftung der Hefezellen (die Gärprobe unter Zufügung von Zucker fiel negativ aus) 450 g frische Hefe, in 1 l Wasser suspendiert, hinzuzusetzen. Am nächsten Tage wies die polarimetrische Prüfung im 2-dcm-Rohr: — 0,15° aus; die Fehlingsche Reaktion war ganz schwach angedeutet. Da eine kleine Menge der Maische mit neuem Zucker keine Gärung mehr zeigte, so gaben wir nochmals 450 g Hefe hinzu. Dasselbe taten wir nach weiteren 24 Stunden, sodaß wir im ganzen 1,8 kg Hefe angewendet hatten. Am sechsten Tage filtrierten wir ab und schüttelten 13,5 l klares Filtrat mit Äther aus. Nach Verjagen des Äthers wurde der Rückstand bei 15 mm rektifiziert.

Fraktion I	68— 75°	20,78 g,
„ II	76—105°	wenige Tropfen,
„ III	106—135°	2,80 g.

Die letzte Portion erstarrte teilweise zu einem Krystallbrei und reduzierte Fehlingsche Lösung erst beim Erhitzen; ersterer erwies sich zum größten Teile als Benzoesäure. Bei der geringen Ausbeute an reduzierender Substanz gelang es uns nicht, ein Derivat unseres Ketonalkohols zu gewinnen. Die vielleicht vorhandene kleine Quantität dürfte wohl unter Mitwirkung selbstgärender Kohlenhydrate der reichlich benutzten Hefe entstanden sein. Selbstverständlich soll nicht die Möglichkeit in Abrede gestellt werden, daß sich unter geeigneten biochemischen Bedingungen die zwei Aldehyde zum Ketonalkohol vereinigen könnten.

e) Über den Zusammenhang zwischen Zucker- oder Brenztraubensäurezerlegung und synthetischer Leistung.

Da es uns nicht geglückt war, mit den beiden Bausteinen Benzaldehyd und Acetaldehyd die Kondensation direkt herbeizuführen, versuchten wir, ausgehend von der Brenztraubensäure — der unmittelbaren Vorstufe des Acetaldehyds beim Zerfall des Zuckermoleküls — die biologische Synthese zu bewerkstelligen.

Der Ablauf der durch die Arbeiten Neubergs wohlbekannten Carboxylase-Tätigkeit scheint für die Entfaltung der Carboligase von wesentlicher Bedeutung zu sein, da der Zusammenschluß von Benzaldehyd mit dem aus der Brenztraubensäure sich abspaltenden Acetaldehyd glatt erfolgt.

α) 200 g Hefe (Engelhardt) wurden in 10 l Wasser verteilt und hierzu 25 g reine, frisch fraktionierte Brenztraubensäure gegeben. Das Gemisch wurde bei 37° digeriert. Nach 24 Stunden konnten wir die Carboligasewirkung schon an dem Auftreten einer optischen Aktivität feststellen. Das filtrierte Gärgut zeigte im 2-dcm-Rohr — 0,4°. Wir setzten, da der Geruch des Bittermandelöls bereits fast völlig verschwunden war, nochmals 10 ccm Benzaldehyd hinzu. Nach 48 Stunden trugen wir weiter 100 g Hefe und 8,9 g Brenztraubensäure ein. Am nächsten Tage betrug die Drehung im 2-dcm-Rohr — 0,75°. Als nach 6 Tagen die CO_2-Entwicklung beendet war, filtrierten wir ab und ätherten 9300 ccm aus. Die Fraktionierung des Ätherrückstandes geschah bei 13 bis 14 mm Druck.

Fraktion	I	bis 80°	Vorlauf,
„	II	81—100°	unbedeutend,
„	III	111—115°	2,5 g,
„	IV	116—127°	4,0 g,
„	V	128—145°	(erstarrt krystallinisch).

Anteil II bis V reduzierten Fehlingsche Lösung bei Zimmertemperatur. 3,4 g der Fraktion IV ergaben mit einer entsprechenden Menge essigsaurem Phenylhydrazin 3,5 g Reaktionsprodukt, das aus Benzol-Petroläther wiederholt umkrystallisiert wurde, bei 96° schmolz und in alkoholischer Lösung das polarisierte Licht nach rechts drehte.

0,1619 g Substanz: 0,4447 g CO_2 und 0,0921 g H_2O.

$C_{15}H_{16}ON_2$. Ber. C = 75,00%; H = 6,67%;
gef. C = 74,91%; H = 6,36%.

Die in Fraktion V aufgetretene Krystallmasse bestand vorwiegend aus Benzoesäure; ihre Entstehung dürfte durch Dismutation zu erklären sein, die wohl bei einer Brenztraubensäurespaltung eintreten kann, während bei gleichzeitigem Umsatz des wasserstoffreicheren Zuckers der mobilisierte „Gärungswasserstoff" am Benzaldehyd angreift und seine Disproportionierung hintanhält.

β) Ein anderer Gäransatz enthielt 25 g Brenztraubensäure und 20 g Hefe (Senst) in 10 l Gesamtvolumen. Nach dem Angären wurden 20 ccm Benzaldehyd und nach weiteren 6 Stunden nochmals 5 ccm zugegeben. Nach 3 Tagen war bei 37° die Reaktion beendet. 9480 ccm des filtrierten Gärgutes wurden ausgeäthert, und der nach Abdunstung des Äthers hinterbliebene Rückstand wurde bei 11 bis 12 mm rektifiziert.

Fraktion I	bis 90°	Vorlauf,
„ II	91–105°	3,98 g,
„ III	106–120°	0,63 g,
„ IV	121–130°	3,80 g.

Sobald im Ansatzrohr Krystallbildung auftrat, wurde die Destillation abgebrochen. Anteil I reduzierte Fehlingsche Mischung in der Hitze, jede der übrigen Portionen schon in der Kälte.

Zur Untersuchung der optischen Aktivität wurde von den verschiedenen Anteilen 1,0 ccm in 10 ccm absolutem Alkohole gelöst und die Ablesung im 1-dcm-Rohr vorgnommen:

Fraktion I	–0,48°,
„ II	–7,77°,
„ III	–
„ IV	–12,68°.

Zur Identifizierung der Substanz wurden 2,5 g der Fraktion IV in 400 ccm Wasser suspendiert und mit einer Lösung von 2,5 ccm Phenylhydrazin in 7,5 ccm verd. Essigsäure vermischt. Die Ausbeute an rohem Hydrazon belief sich auf 3,2 g; nach Umkrystallisieren aus Benzol-Petroläther lag der Smp. bei 96°. Das polarimetrische Verhalten dieses aktiven Phenylhydrazons stimmte mit dem der Präparate überein, die in den Gärversuchen mit Rohrzucker oder Stärkesirup gewonnen waren (s. S. 299 u. 303).

0,1074 g Substanz in 10,0 ccm abs. Alkohol drehten im 2-dcm-Rohr = + 4,75°;

$$[\alpha]_D = +221{,}13°.$$

0,1305 g Substanz in 10 ccm Benzol drehten im 2-dcm-Rohr = − 4.47°;

$$[\alpha]_D = -171{,}26°.$$

Somit zeigt sich, daß es für den Eintritt der Carboligasewirkung einerlei ist, ob die volle zymatische Spaltung der verschiedenen gärfähigen Zucker oder die carboxylatische Zerlegung von Brenztraubensäure abläuft.

Für die Abbaustufe, die Brenztraubensäure, ergibt sich zugleich eine neue biochemische Rolle: sie ist der Ausgangsort kernsynthetischer Funktionen.

Berichtigung

zu dem Beitrag Z. Aszódi „Beitrag zur Kenntnis der chemischen Wärmeregulation der Säugetiere. II.“

Band 113, Seite 75 unten.

Die Tabelle loc. cit. nebeneinandergestellt, ist fortlaufend zu lesen, und zwar folgendermaßen:

U	O_2
29,1	79,1
25,7	97,8
22,0	144
19,2	152
19,5	150
16,1	145
13,4	69,7

Autorenverzeichnis.

Aron, Hans und Richard Gralka. Die akzessorischen Nährstoff-Faktoren. I. Zum Sondernährwert verschiedener Nahrungsfette. S. 188.

Ege, Rich. Untersuchungen über das Volumen der Blutkörperchen in gegenseitig osmotischen Lösungen. Studien über das osmotische Verhältnis der Blutkörperchen. I. S. 109.

— Der osmotische Druck im Blutkörperchen und Plasma. Studien über das osmotische Verhältnis der Blutkörperchen. II. S. 175.

Eigenberger, Fritz s. Pribram.

Falta, W. und M. Richter-Quittner. Über die sogenannte oligodynamische Wirkung von Schwermetallen und Schwermetallsalzen. S. 39.

Feigl, Joh. Chemische Organuntersuchungen. I. Zusammensetzung der Leber bei akuter gelber Atrophie. S. 22.

— Über das Vorkommen und die Verteilung von Fetten und Lipoiden im Blute nach Blutentziehung. Chemische Beiträge zur Kenntnis des Lipämiegebietes. VII. S. 63.

Fränkel, Sigmund. Über die Beziehung von Druck, Temperatur und Fermentwirkung. I. Mitteilung: Die Wirkung von Druck auf die Geschwindigkeit der Fermenthydrolysen durch Pepsin, Trypsin und Diastase. Von Gino Meldolesi (Rom). S. 85.

Freudenberg, E. und P. György. Über Kalkbindung durch tierische Gewebe. S. 96.

Fühner, H. Die narkotische Wirkung des Benzins und seiner Bestandteile (Pentan, Hexan, Heptan, Octan). S. 235.

— und E. Mertens. Der toxikologische Nachweis des Cytisins. S. 262.

Gralka, Richard s. Aron.

György, Paul. Notiz zur Kenntnis der Senkungsgeschwindigkeit von roten Blutkörperchen. S. 71.

— s. Freudenberg.

Hári, Paul. Über die Lichtadsorption des reduzierten Hämoglobins. S. 52.

Hartleben, Hans. Die Adsorption der Alkalichloride an Tierkohle. S. 46.

Herbst, Heinrich. Über die Adsorption durch Kohlenstoff. S. 204.

Hirsch, Julius s. Neuberg.

Keller, Rudolf. Dielektrizitätskonstanten biochemischer Stoffe. S. 134.

Meldolesi, Gino s. Fränkel.

Mertens, E. s. Fühner.

Michaelis, L. Weitere Beiträge zur Theorie der Invertasewirkung. S. 269

Neuberg, Carl und Julius Hirsch. Über ein Kohlenstoffketten knüpfendes Ferment (Carboligase). S. 282.

Pribram, Hugo und Fritz Eigenberger. Über Harnkolloide und Stalagmone. S. 168.

Reinle, Hans. Über die Wirkung der Becquerel- und Röntgenstrahlen sowie des ultravioletten Lichtes auf die Peroxydase und Methylenblau - Formalin - Reduktase-Reaktion der Kuhmilch. S. 1.

Richter-Quittner, M. s. Falta.

Salkowski, E. Zum Verhalten des Formaldehyds im Tierkörper. S. 159.

Takei, Takeo. Über die Verteilung des dem Blute hinzugefügten Wassers zwischen Blutkörperchen und Serum. S. 220.

Wiener, Stella. Zur Methodik der Phosphorsäurebestimmung. Anwendung des Preglschen Verfahrens auf die Serumanalyse. S. 42.











